

Fibrosi cistica: dal gene alla pratica

LUISELLA GIGLIO, DINO FARAGUNA

Clinica Pediatrica, IRCCS "Burlo Garofolo", Trieste

Il gene della FC codifica per la proteina CFTR che regola il trasporto del cloro attraverso la membrana cellulare. A diversi errori genetici corrispondono diversi gradi di deficit funzionale del CFTR. Questo comporta problemi diagnostici, prognostici e concettuali. Le speranze di terapia genica sono ancora lontane.

Nel 1989 l'identificazione del gene della fibrosi cistica (FC) sul braccio lungo del cromosoma 7 permetteva di acquisire maggiori conoscenze sul difetto di base e apriva nuove prospettive per la cura di questa malattia.

Il gene codifica per una proteina denominata *Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator* (CFTR), la cui funzione principale è il trasporto di elettroliti attraverso la membrana cellulare delle cellule epiteliali; in pratica è considerata un canale del cloro cAMP-dipendente.

Dopo dieci anni, quali sono le ricadute di questa scoperta sulla pratica clinica in termini di diagnosi, prognosi, prevenzione e terapia?

DAL GENE ALLA DIAGNOSI

Gli errori del gene CF sono così numerosi da non poter essere riconosciuti tutti. In Italia, con diversa frequenza nelle varie regioni, la percentuale delle mutazioni identificabili varia da meno del 70% all'85%, e la probabilità di definire entrambi i cromosomi mutati varia da meno del 50% al 72%. La diagnosi molecolare è dunque possibile in meno del 25% dei casi e il test del sudore è indispensabile.

Il test del sudore per la diagnosi di FC è stato messo a punto nel lontano 1959: si tratta di un test indiretto che

CYSTIC FIBROSIS FROM GENES TO PRACTICE (*Medico e Bambino* 18, 21-25, 1999)

Key words

Cystic fibrosis, CFTR, Screening

Summary

The identification of CF gene prompted several advances in the understanding of the disease, as well as practical improvements in the diagnosis. New perspectives are also open with respect to screening programs and therapeutic implications. At present, due to the high number of mutations in the CF gene, screening programs based on genetic screening are not recommended, and genetic testing is indicated only for cases where CF is suspected on clinical grounds and sweat test is negative or border line. Relationship between genotype and phenotype have also been partially clarified: a strict association does exist for pancreatic function, but not for lung disease. Therapeutic perspectives are based on gene therapy or pharmacological activation of CFTR; in this area there are encouraging results but clinical application is still not possible.

non dà una misura del prodotto genico, ma che valuta gli effetti a distanza del gene stesso. A tutt'oggi, sulla base delle attuali conoscenze genetiche, è un test diagnostico ormai superato?

Non tutte le mutazioni del gene della fibrosi cistica sono state identificate e, anche tra quelle attualmente conosciute (oltre 600), non tutte possono essere routinariamente ricercate. La frequenza delle varie mutazioni differisce a seconda delle aree geografiche: ad esempio la F508, che è la più comune, ha una frequenza del 50% nel bacino mediterraneo, del 70% nei paesi anglosassoni e del 90% in Danimarca. Ne deriva che ogni area geografica dovrebbe verificare la distribuzione delle mutazioni nella propria popolazione. Nel Nord Est Italia la ricerca delle 14 mutazioni più frequenti in quell'area permette l'identificazione dell'85% dei cromosomi FC, il che significa che la probabilità di trovare entrambe le mutazioni in un paziente affet-

to da FC è del 72%. Diversa la situazione sull'intero territorio nazionale, dove la percentuale delle mutazioni identificabili è in media del 73% e la probabilità di definire entrambi i cromosomi mutati in un soggetto FC scende al 52%.

Risulta evidente che la mancata identificazione di due mutazioni del CFTR non può escludere la malattia e pertanto, allo stato attuale delle conoscenze, il test del sudore rimane il *gold standard* diagnostico¹. Vanno inoltre aggiunti l'alto costo delle metodiche di studio genetico e la mancanza di un programma di controllo di qualità tra i vari laboratori.

L'analisi delle mutazioni del CFTR riveste comunque un importante ruolo diagnostico in alcune situazioni particolari.

Test del sudore borderline o negativo

Che esistessero forme di FC con test del sudore borderline o negativo è noto da tempo, ma lo studio genetico e la mi-

surazione della differenza di potenziale nasale hanno permesso recentemente di formulare la diagnosi in un numero non trascurabile di forme atipiche di malattia. Circa il 2% dei casi di FC oggi diagnosticati si presenta con malattia sinu-polmonare cronica, funzionalità pancreatica conservata, test del sudore normale o borderline, e questa percentuale è destinata ad aumentare nel tempo².

Nei casi clinicamente riferibili a FC con test del sudore negativo o borderline l'indagine molecolare può permettere viceversa di porre la diagnosi di natura.

In presenza di sintomi suggestivi di FC, con valori dei test del sudore negativi o borderline, la prima raccomandazione è quella di ripetere il test, che va eseguito secondo il metodo di Gibson e Cooke, sempre in una struttura con ampia esperienza (Centro Regionale FC), poiché si tratta di una metodica fortemente influenzata dall'abilità dell'operatore e gravata da numerose possibilità di errore, sia nella fase di stimolazione che di raccolta e analisi del sudore. L'interpretazione dei risultati in rapporto all'età, la valorizzazione del rapporto cloro/sodio nel sudore e la ripetizione del test dopo dieta iposodica o dopo somministrazione di 9-alfa fludrocortisone costituiscono accorgimenti che verranno di volta in volta considerati nel singolo caso^{1,3}.

L'associazione tra il coinvolgimento di un determinato organo e le varie mutazioni ha portato alcuni autori a ipotizzare l'esistenza di una sensibilità organo specifica al grado di deficit funzionale della proteina CFTR⁴. I vasi deferenti sarebbero quelli che necessitano di un più alto livello di CFTR funzionante per il loro sviluppo (circa 10%), seguiti dalle ghiandole sudoripare, la cui soglia sarebbe molto vicina a quella delle cellule epiteliali polmonari, per ultima la funzione pancreatica (Tabella I).

L'alterazione del test del sudore è correlata al grado di disfunzione di CFTR; il deficit digestivo sarà sempre accompagnato da un test del sudore positivo, la pneumopatia quasi sempre, l'agenesia isolata dei deferenti quasi mai.

RAPPORTO TRA FENOTIPO E PERCENTUALE DI CFTR FUNZIONANTE

Organo coinvolto	CFTR funzionante
Insufficienza pancreatica	<1%
Malattia polmonare/ Alterazione ghiandole sudoripare	4.5 - 5%
Assenza bilaterale congenita dei vasi deferenti (CBAVD)	10%
Non note alterazioni	>10%

La tabella riassume la sensibilità dei vari tessuti alla perdita di funzione della proteina CFTR. I vasi deferenti rappresentano l'organo che richiede la più alta percentuale di CFTR funzionante per lo sviluppo. L'insufficienza pancreatica si manifesta quando l'attività residua del CFTR è molto bassa (< 1%), ben al di sotto del livello richiesto per una normale funzione delle ghiandole sudoripare (circa 5%). La soglia per la normale funzione delle ghiandole sudoripare e delle cellule epiteliali polmonari è probabilmente molto vicina. In rapporto al fatto che alcuni pazienti hanno un test del sudore normale e una tipica patologia polmonare è probabile che le ghiandole sudoripare siano meno sensibili rispetto alle vie aeree al deficit di CFTR.

Tabella I

RAPPORTO GENOTIPO - FENOTIPO

	Fenotipo severo	Fenotipo lieve
Tipo mutazione	2 mutazioni severe	almeno 1 mutazione lieve
Età di diagnosi	precoce (<1 a)	tardiva (>10 aa)
Pancreas	insufficiente (> 95% casi)	sufficiente (70-80% casi)
Stato nutrizionale	scadente	buono
Ileo da meconio	frequente	assente
Test del sudore: cloro	alto	più basso, normale o borderline
Funzione polmonare	variabile	variabile
Fertilità maschile	assente	possibile

Le mutazioni che determinano un fenotipo lieve sono dominanti rispetto a quelle che determinano un fenotipo severo. Esistono alcune mutazioni, non inquadrabili in questi due gruppi, per le quali non è prevedibile il fenotipo. (Modificato da Kerem '96).

Tabella II

Ne consegue che è improbabile trovare un test del sudore normale di fronte a sintomi correlati all'insufficienza pancreatica (scarsa crescita, ileo da meconio, ostruzione intestinale distale, prolasso rettale, cirrosi epatica in età < 30 anni), o a sintomi legati a perdita di sali (sindrome da perdita di sali, alcalosi metabolica). Per contro, essendo le soglie di funzione respiratoria e funzione delle ghiandole sudoripare molto vicine, in una malattia che si esprima con sintomi respiratori suggestivi e isolati (poliposi nasale, pansinusite cronica, bronchiectasie, malattia suppurativa polmonare e colonizzazione da *Pseudomonas*), il test del sudore può risultare normale⁵.

Nei casi sospetti di FC, ma con test del sudore dubbio, l'analisi genetica dà un insostituibile ausilio diagnostico.

Gli studi di correlazione tra genotipo ed espressività clinica hanno permesso di identificare alcune mutazioni associate a un fenotipo lieve, intendendo per fe-

TEST COMPLEMENTARI NELLE FORME ATIPICHE

- Rx e/o TAC polmonare
- Rx e/o TAC seni paranasali
- Coltura espettorato
- Funzionalità pancreatica
- Funzionalità epatica
- Valutazione urogenitale nel maschio adulto (spermiogramma, ecografia)
- Esclusione di altre patologie (discinesia ciliare, deficit a1-antitripsina, deficit immunologico ecc.)

Nei casi con sintomi suggestivi, ma con test del sudore, analisi genetica e differenza di potenziale nasale non conclusivi, questi esami possono portare a un orientamento per il trattamento e il follow-up.

Tabella III

notipo lieve una diagnosi più tardiva, una normale funzionalità pancreatica, un buono stato nutrizionale, assenza di ileo da meconio, fertilità maschile possibile, funzione polmonare variabile; cloro nel sudore più basso, in alcuni casi test del sudore normale o borderline (*Tabella II*)⁶.

In queste situazioni la ricerca delle mutazioni CFTR non va limitata al pannello standard adottato dai vari Centri in rapporto alla distribuzione regionale, ma l'analisi deve necessariamente essere allargata a quelle mutazioni più rare, note per associarsi a un test del sudore borderline o negativo.

Un'analisi genetica negativa, o l'identificazione di una sola mutazione, non escludono la malattia. Pertanto, in casi fortemente sospetti, quando la genetica non è dirimente, l'iter diagnostico diventa più complesso, ed è opportuno ricorrere, dove possibile, alla misurazione della differenza di potenziale transepiteliale a livello nasale. Si tratta di un test che valuta in maniera diretta la funzione della proteina CFTR, ossia valuta l'alterazione dello scambio ionico di membrana, misurando la differenza di potenziale transepiteliale. È un esame ancora scarsamente diffuso, realizzabile solo in pochi laboratori.

In alcuni casi non sarà possibile giungere a una definizione di diagnosi, ma solo a una diagnosi di probabilità, attraverso un insieme di approfondimenti (dettagliati nella *Tabella III*), avviati con lo scopo di modulare il programma terapeutico e di follow-up a quella particolare situazione clinica^{3,5}.

Patologie associate al CFTR

Il ricorso sempre maggiore all'analisi genetica ha sollevato nuovi problemi diagnostici: si tratta di situazioni nelle quali è stata trovata un'aumentata frequenza di mutazioni del CFTR (*Tabella IV*), ma nelle quali il test del sudore risulta negativo e la sintomatologia non è quella classica della malattia^{3,6}.

Caso emblematico è l'assenza bilaterale congenita dei vasi deferenti (CBAVD), associata o meno a sintomi sfumati di FC, dove è frequente il riscontro di una o due mutazioni del CFTR o il polimorfismo 5T dell'introne 8. In questi casi è importante il consiglio genetico, spesso molto problematico, prima di un eventuale fecondazione artificiale.

Non c'è consenso sulla definizione diagnostica di molte di queste situazioni, ma al di là dell'inquadramento nosologico – che pure implica ricadute in termini

PATOLOGIE CON AUMENTATA FREQUENZA DELLE MUTAZIONI CFTR

Assenza bilaterale congenita dei dotti deferenti (CBAVD)
Bronchiectasie
Pneumopatia cronica con isolamento di *Pseudomonas*
Sinusite cronica e poliposi nasale non allergica
Aspergillosi broncopulmonare allergica
Cirrosi biliare
Pancreatiti croniche idiopatiche/acute ricorrenti
Ipertrofia epistomiale neonatale

In alcune di queste situazioni non è possibile giungere alla definizione diagnostica.

Tabella IV

di stigmatizzazione, problemi assistenziali, assicurativi ecc. – queste forme aprono problematiche nuove relative a follow-up, trattamento e consulenza genetica.

In conclusione, un recente *Consensus statement* della CF Foundation americana⁷ propone che la diagnosi di FC venga formalizzata in presenza di: sintomi tipici o di familiarità (fratelli ammalati), o test di screening neonatali patologici associati a test del sudore positivo, o identificazione di due mutazioni del CFTR, o alterazioni della differenza di potenziale nasale (*Tabella V*). In alcune forme atipiche di malattia, con test del sudore negativo o borderline, l'analisi genetica può aiutare il clinico nella definizione diagnostica, ma in altri casi l'iter diagnostico è complesso, e si avvale di test spesso disponibili solo in pochi laboratori (differenza di potenziale nasale). In altri casi ancora, anche dopo l'esecuzione degli approfondimenti complementari elencati nella *Tabella III*, non sarà possibile giungere ad una diagnosi certa di FC, pur senza che questa possa essere esclusa; si tratta di un'evenienza rara, nella quale il dubbio di diagnosi non modifica certamente la terapia ma complica molto la definizione prognostica e il modo con cui viene fornito il consiglio genetico.

DAL GENE ALLA PROGNOSI

I diversi errori del gene CF producono disfunzioni della molecola CFTR e del trasporto del cloro di diversa gravità, con effetto lesionale variabile in funzione di una soglia di sensibilità, diversa per i diversi tessuti: molto bassa per i dotti deferenti, molto alta per il pancreas.

CRITERI DIAGNOSTICI

Per la diagnosi di FC è necessario che almeno un criterio per ognuna delle due classi sia soddisfatto:

- Sintomi suggestivi di FC
 - Familiarità (fratelli)
 - Positività screening neonatale
- +
- Test del sudore positivo
 - Presenza di due mutazioni del CFTR
 - Differenza di potenziale nasale patologica

Criteria di diagnosi proposti dalla Cystic Fibrosis Foundation Consensus Conference.

Tabella V

La malattia è caratterizzata da un'ampia variabilità di espressione clinica, che allo stato attuale delle conoscenze può solo in parte essere spiegata dalle alterazioni che le diverse mutazioni del gene determinano in termini di quantità e funzione della proteina CFTR.

I tentativi di trovare una correlazione tra genotipo e fenotipo hanno portato all'identificazione di alcune mutazioni che allo stato di omozigosi determinano un fenotipo severo (diagnosi precoce, insufficienza pancreatica, stato nutrizionale compromesso, alta incidenza di ileo da meconio, sterilità maschile, livelli di cloro nel sudore elevati, funzione polmonare variabile) e altre mutazioni che allo stato di eterozigosi (ossia sono dominanti sulle mutazioni gravi) danno un fenotipo lieve. Per alcune mutazioni, infine, i fenotipi correlati presentano un'ampia variabilità (*Tabella II*)^{4,8}.

In conclusione, alcune mutazioni correlano con la funzionalità pancreatica, e le mutazioni associate a un pancreas funzionante sono dominanti su quelle associate a insufficienza pancreatica. Nella pratica clinica questo implica che un paziente con sufficienza pancreatica al mo-

mento della diagnosi, ma con un genotipo che evidenzia due mutazioni severe del CFTR, deve essere strettamente monitorato per l'insorgenza di insufficienza pancreatica.

La funzione polmonare, per contro, non è chiaramente correlata al tipo di mutazioni identificate, essendo molto variabile anche in pazienti con lo stesso genotipo. È probabile che in questo caso l'influenza di fattori ambientali e di fattori genici modificatori abbia un peso rilevante.

Allo stato attuale delle conoscenze, pertanto, la definizione del genotipo del paziente non è di ausilio nel prevedere l'evoluzione della sua malattia polmonare e quindi in pratica la prognosi.

DAL GENE ALLA PREVENZIONE

L'analisi genetica si presenta in teoria come il metodo più praticabile per uno screening neonatale e per l'identificazione prenatale delle coppie a rischio. In realtà quest'ipotesi apre problemi di non facile soluzione.

Screening neonatale

Lo screening neonatale della FC, favorendo l'avvio tempestivo di programmi terapeutici rivolti alla prevenzione delle complicanze, ha dimostrato vantaggi nutrizionali e respiratori, peraltro limitati nel tempo. L'identificazione precoce della malattia permette un consiglio genetico in tempo utile per programmare eventuali ulteriori gravidanze, offre il vantaggio di poter studiare la storia naturale della malattia e di poter verificare l'efficacia di protocolli terapeutici (antibiotico-terapia in pazienti asintomatici, uso precoce di farmaci ad attività anti-infiammatoria, terapia genica o molecolare, se e quando disponibili)⁹⁻¹¹.

Per anni il metodo di screening più diffuso è consistito nella determinazione della tripsina immunoreattiva (IRT) e, visto l'alto numero di falsi positivi, in una seconda determinazione dell'IRT (*retesting*) in caso di positività neonatale. Il test del sudore confermava la diagnosi nei lattanti con retesting positivo.

Con l'identificazione del gene CFTR, l'analisi delle più comuni mutazioni è stata introdotta nei programmi di screening neonatale come test complementare nei neonati IRT positivi. I vantaggi di eseguire lo studio genetico sono rappre-

sentati dalla riduzione del numero di falsi positivi con conseguente miglioramento del valore predittivo positivo del test, dall'accorciamento dei tempi di diagnosi con riduzione dell'ansia nelle famiglie dei falsi positivi e dalle minori probabilità di perdite al follow-up per la possibilità di eliminare il retesting.

Il numero e il tipo delle mutazioni da ricercare variano a seconda dell'area geografica di attuazione dello screening in considerazione della già citata differente distribuzione delle mutazioni stesse¹²⁻¹⁵.

L'analisi genetica porta inevitabilmente all'identificazione di portatori sani della malattia, il che viene considerato un effetto negativo di questa strategia di screening per le implicazioni che comporta: si tratta di minori ai quali non viene lasciata la libertà di scegliere se conoscere o meno il proprio patrimonio genetico, e inoltre si tratta di un'informazione utile solo in età riproduttiva e che con gli anni potrebbe essere dimenticata.

Programmi di screening neonatale di massa per la FC sono in corso da anni in alcune aree geografiche, ma a tutt'oggi i risultati di questa strategia di prevenzione, sebbene molto incoraggianti, non hanno permesso di evidenziare un indiscusso beneficio in termini di prognosi a lungo termine nei soggetti identificati con i test neonatali. Ad oggi, pertanto, in assenza di una terapia specifica di dimostrata efficacia, il sicuro vantaggio dello screening è quello di poter fornire un consiglio genetico tempestivo.

Viste queste premesse, alcune regioni hanno avviato programmi alternativi ai test neonatali con l'obiettivo di un'identificazione clinica precoce dei bambini affetti da FC¹⁶.

Screening dei portatori e diagnosi prenatale

Mentre è indiscussa l'opportunità di estendere la ricerca dei portatori a tutti i parenti dei pazienti con FC, sulla proponibilità di uno screening per l'identificazione del portatore nella popolazione generale il dibattito è ancora molto acceso.

Nella FC, infatti, a differenza di altre malattie genetiche quale, ad esempio, la talassemia, l'identificazione dei portatori non si basa sull'analisi diretta del prodotto genico (ad esempio emoglobina A2), ma sulla ricerca delle mutazioni del gene CFTR. Questo comporta alcuni problemi: costi elevati, percentuale rilevante di mutazioni non note o comunque non routinariamente ricercabili (falsi negativi) e diversa distribuzione territoriale

delle mutazioni che obbliga ogni area interessata alla messa a punto di un proprio pannello di mutazioni da studiare.

Supponiamo che in una data regione sia possibile mettere a punto un pannello di mutazioni in grado di identificare l'85% dei cromosomi FC. Ne consegue che, prima di eseguire il test, il rischio per una coppia di avere un figlio affetto da FC è circa 1:2500, ma dopo il test possiamo trovarci di fronte a 3 situazioni:

- coppie a rischio 1:4 di avere un figlio affetto (entrambi portatori): possibilità di diagnosi prenatale;
- coppie a rischio intermedio 1:644 (un solo portatore o meglio mutazioni identificate in un solo soggetto);
- coppie a basso rischio 1:104.000 (nessuna mutazione trovata).

Se invece fossimo in grado di identificare il 96% dei cromosomi FC, il rischio residuo per la coppia a rischio intermedio (1:2400) sarebbe del tutto sovrapponibile a quello della popolazione generale. Partendo da questa considerazione, autorevoli organizzazioni scientifiche internazionali ritengono non proponibile lo screening di massa del portatore fino a che la sensibilità del test rimarrà inferiore al 95%.

Al momento attuale, nella nostra realtà (possibilità di identificare dal 70 all'85% delle mutazioni a seconda della regione) è consigliabile offrire il test solo alle coppie con rischio familiare. Ogni programma in tal senso deve porsi l'obiettivo di creare un modello informativo e organizzativo tale da riuscire a raggiungere quanti più parenti possibili con un meccanismo "a cascata", ossia l'indagine viene inizialmente proposta ai parenti dell'affetto e a sua volta offerta ai familiari dei nuovi portatori via via individuati¹⁷⁻¹⁹. Nelle famiglie con un figlio affetto da FC la diagnosi prenatale ha un'accuratezza vicina al 100%, ed è possibile anche in caso di mutazione sconosciuta, grazie allo studio dei polimorfismi del DNA.

DAL GENE ALLA TERAPIA

Ingegneria genetica

L'identificazione del gene CFTR ha subito acceso molti entusiasmi sulla possibilità di una terapia genica della malattia.

Si ritiene che, per ottenere un miglioramento clinico delle manifestazioni polmonari, siano sufficienti basse quantità di CFTR funzionante (circa il 10% del normale). Per trasferire il gene FC nor-

male nelle cellule polmonari sono stati studiati diversi vettori: adenovirus, virus adeno-associati e liposomi.

Gli studi preclinici condotti con gli adenovirus dimostrano che questo vettore è in grado di trasferire il gene FC normale alle cellule epiteliali, ma gli svantaggi principali sono rappresentati da un'efficienza di trasferimento genico non ottimale e limitata nel tempo, da una risposta immune che riduce l'efficienza di somministrazioni ripetute e da una reazione infiammatoria dose-dipendente. I liposomi, pur dando una minor reazione infiammatoria, dimostrano una scarsa efficienza di trasferimento genico e di trasporto intracellulare. I virus adeno-associati dimostrerebbero un'espressione più prolungata, una minor risposta infiammatoria, ma una più bassa efficienza rispetto agli adenovirus.

Per i programmi sperimentali attualmente in corso l'obiettivo è quello di ottenere un prolungamento nel tempo di espressione genica, di migliorare l'efficacia di somministrazioni ripetute, riducendo la risposta immune e di minimizzare i processi infiammatori^{20,22}. Sebbene si siano ottenuti alcuni risultati incoraggianti, la strada verso una terapia genica appare ancora molto lunga e tutt'altro che certa, e altri approcci terapeutici sono attualmente allo studio.

Farmacoterapia del gene

L'identificazione di differenti tipi di mutazioni e la miglior conoscenza degli effetti di ciascuna mutazione sui processi di sintesi, trasporto e funzione della proteina CFTR, hanno aperto nuove prospettive terapeutiche.

Le mutazioni sono state suddivise in cinque classi a seconda del meccanismo attraverso il quale determinano l'alterazione della funzione del prodotto genico. Le mutazioni di classe I causano un difetto di produzione della proteina CFTR; le mutazioni di classe II determinano un difetto di maturazione della CFTR che viene bloccata e degradata negli organuli citoplasmatici e non può pertanto raggiungere la membrana apicale; le mutazioni di classe III implicano un difetto di regolazione della funzione della CFTR che raggiunge la membrana apicale, ma non può essere attivata; le mutazioni di classe IV comportano un difetto di trasporto dello ione cloro; le mutazioni di classe V determinano una rallentata sintesi di una CFTR normalmente funzionante^{24,23}.

Una strategia terapeutica alternativa alla terapia genica può essere l'identifica-

zione di sostanze in grado di stimolare la sintesi, il trasporto o la funzione della CFTR mutata e per questa è stato coniato il termine di *Protein-repair Therapy*. Alcune sostanze sono attualmente allo studio: l'antibiotico aminoglicosidico G-418, glicerolo, fenilbutirrato di sodio, milrinone, CPX, forskolina, genisteina ecc.^{22,24}.

La terapia specifica del difetto di base della malattia è un campo molto promettente, che dovrà probabilmente tener conto dell'azione delle diverse mutazioni sul CFTR, ed essere pertanto modulata sulla base del genotipo.

IN SINTESI

I vantaggi sulla pratica clinica della scoperta del gene della FC e dell'acquisizione di sempre maggiori conoscenze sul ruolo fisiopatogenetico della CFTR sono stati appannaggio prevalente della diagnosi e della consulenza genetica. Queste stesse acquisizioni hanno messo in evidenza un cospicuo numero di situazioni in cui la diagnosi può essere sospettata ma non formalizzata, ipotizzando uno spettro di presentazioni cliniche della malattia molto più vasto di quanto ritenuto in passato.

La scoperta del gene FC ha dato un ampio impulso alla ricerca sulla terapia genica e specifica che, per quanto ancora molto lontane da una possibile applicabilità futura, rappresentano attualmente il campo di maggior investimento di risorse in una malattia che, sebbene abbia visto con gli anni aumentare l'aspettativa di vita del paziente, rimane pur sempre gravata da una prognosi molto severa.

Bibliografia

1. LeGrys V: Sweat testing for the diagnosis of cystic fibrosis: practical considerations. *J Pediatr* 129, 892-7, 1996.
2. Rosenstein BJ, Zeitlin PL: Cystic fibrosis. *Lancet* 351, 277-82, 1998.
3. Wallis C: Diagnosing cystic fibrosis: blood, sweat and tears. *Arch Dis Child* 76, 85-91, 1997.
4. Davis P, Drumm M, Konstan M: Cystic fibrosis. *Am J Resp Crit Care Med* 154, 1229-56, 1996.
5. Stern R: The diagnosis of cystic fibrosis. *N Engl J Med* 336, 487-91, 1997.
6. Kerem E, Kerem K: Genotype-Phenotype correlations in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 22, 387-95, 1996.
7. Cystic Fibrosis Foundation Consensus Conference: The diagnosis of cystic fibrosis: consensus statement. *Cystic Fibrosis Founda-*

tion vol 7, sez.I, 1-15, 1996.

8. Mastella G: Relationships between gene mutations and clinical features in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 11 suppl, 63-65, 1995.
9. Farrell PM, Kosorok MR, Laxova A, et al: Nutritional benefits of neonatal screening for cystic fibrosis. *New Engl J Med* 337, 963-69, 1997.
10. Faraguna D, Giglio L, D'Orazio C, et al: Is clinical status at diagnosis a prognostic factor in CF infants identified by neonatal screening? *Ped Pulmonol* suppl 7, 46-51, 1991.
11. Dankert-Roelse JE, Meerman GJ: Long term prognosis of patients with cystic fibrosis in relation to early detection by neonatal screening and treatment in a cystic fibrosis centre. *Thorax* 50, 712-8, 1995.
12. 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* 86, 497-502, 1997.
13. Wilken B, Wiew V, Sherry G, Bayliss U: Neonatal screening for cystic fibrosis: A comparison of two strategies for case detection in 1.2 million babies. *J Pediatr* 127, 965-70, 1995.
14. Gregg R, Simantel A, Farrell P, et al: Newborn screening for cystic fibrosis in Wisconsin: Comparison of biochemical and molecular methods. *Pediatrics* 99, 819-24, 1997.
15. Ferec C, Verlingue C, Parent P, et al: Neonatal screening for cystic fibrosis: result of a pilot study using both immunoreactive trypsinogen and cystic fibrosis gene mutation analyses. *Hum Genet* 96, 542-48, 1995.
16. Giglio L, Candusso M, D'Orazio C, Mastella G, Faraguna D: Failure to thrive: the earliest feature of cystic fibrosis in infants diagnosed by neonatal screening. *Acta Paediatr* 86, 1162-65, 1997.
17. Borgo G: Quale screening per la fibrosi cistica nel 2000? *Medico e Bambino* 4, 23-28, 1996.
18. Statement from the National Institutes of Health Workshop on population screening for cystic fibrosis gene. *N Engl J Med* 323, 70-71, 1990.
19. Statement of Society of Human Genetics on cystic fibrosis screening. *Am J Hum Genet* 51, 1443-44, 1992.
20. McElvaney NG: Is gene therapy in cystic fibrosis a realistic expectation? *Current Opinion in Pulmonary Medicine* 2, 466-71, 1996.
21. Knowles MR, Hohnaker KW, Zhou Z, et al: A controlled study of adenoviral-mediated gene transfer in the nasal epithelium of patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med* 333, 823-31, 1995.
22. Henig N, Aitken M: Update on clinical trials of cystic fibrosis. *Current Opinion in Pulmonary Medicine* 3, 404-09, 1997.
23. Wilschanski M, Zielenski J, Markiewicz D, et al: Correlation of sweat chloride concentration with classes of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene mutations. *J Pediatr* 127, 705-10, 1995.
24. Southern KW: F508 in cystic fibrosis: willing but not able. *Arch Dis Child* 76, 278-82, 1997.