



Fondazione Ricerca
Fibrosi Cistica - Onlus
italian cystic fibrosis research foundation

XIV SEMINARIO DI PRIMAVERA

Progressi recenti e sviluppi futuri
della ricerca in fibrosi cistica

- **Comprendere e valutare gli studi clinici**
- **I farmaci di domani**
- **Le terapie di oggi**

Verona, 30 aprile 2016



Azienda Ospedaliera
Universitaria Integrata
Verona



Ad essa riconoscente per la storica collaborazione,
la Fondazione Ricerca Fibrosi Cistica.

Redazione: Gianni Mastella, Graziella Borgo, Tecla Zarantonello

In copertina: Illustrazione di Saba Ferrari "Primavera", acquerelli su cartoncino, 2016

Grafica e impaginazione: Federica Negroni

Stampa: aprile 2016, Tipolitografia Artigiana snc - San Giovanni Lupatoto (VR)



**Fondazione Ricerca
Fibrosi Cistica - Onlus**
italian cystic fibrosis research foundation

XIV SEMINARIO DI PRIMAVERA

Progressi recenti e sviluppi futuri
nella ricerca in fibrosi cistica

Comprendere e valutare gli studi clinici

I farmaci di domani

Le terapie di oggi

Verona, San Massimo, Centro Congressi CUM
30 Aprile 2016



Sommario

Presentazione

Pag. 3

Gianni Mastella

Comprendere e valutare gli studi clinici

Pag. 5

Roberto Buzzetti (Fondazione Ricerca Fibrosi Cistica)

Le nuove terapie mirate alla correzione del difetto di base: luci ed ombre dei trial clinici

Pag. 11

Giovanni Taccetti (Centro Regionale Toscano Fibrosi Cistica, Firenze)

Le terapie tradizionali: stato dell'arte e ruolo nel cambiamento della vita dei malati

Pag. 22

Laura Minicucci (Centro Regionale Fibrosi Cistica, IRCCS Istituto Giannina Gaslini, Genova)



Presentazione

Gianni Mastella

Direttore Scientifico

(Fondazione Ricerca Fibrosi Cistica)

Questi appuntamenti annuali di Primavera, che la Fondazione Ricerca FC promuove fin dal 2003 (siamo al 14°), intendono mettere a fuoco in chiave divulgativa le informazioni più significative che provengono dal percorso di ricerca che la Comunità scientifica, attenta alle problematiche FC, sta mettendo a fuoco.

Naturalmente, le tematiche più calde oggi riguardano ciò che si sta muovendo nella ricerca di soluzioni che vogliono puntare alla cura della malattia agendo sulle sue cause primarie, il gene difettoso e la proteina difettosa che ne deriva. Al momento gli studi più promettenti ed avanzati riguardano il recupero e il potenziamento della proteina CFTR. Alcuni di questi sono già approdati con successo al bagaglio terapeutico delle persone malate, ancorchè di una piccola parte di esse (vedi ivacaftor). Proposte estese ad un maggior numero di malati (vedi combinazione di lumacaftor e ivacaftor per la mutazione F508del) sono al momento interessanti perché indicano un percorso promettente, ma ancora lontane da una applicabilità efficace in tutti i malati portatori di mutazioni F508del. Tuttavia, c'è in questo ambito un fervore di ricerca che è forte promessa di risultati, di cui potrebbero fruire molti malati entro tempi ragionevoli.

Abbiamo voluto tuttavia presentare anche una rassegna della lunga e proficua strada percorsa dalla ricerca per attuare cure mirate a prevenire e trattare i sintomi nonché le complicanze della malattia. Forse, chi vive oggi sulla propria pelle gli effetti di questa alterazione genetica, essendo arrivato all'età adulta in accettabili condizioni di salute, non si rende conto abbastanza (o non è molto interessato a rendersene conto, perché paga comunque un prezzo ancora consistente alla malattia) di quanto si sia fatto per recuperare salute e allungare la vita e la sua qualità. E non può sapere come erano e come vivevano i bambini (c'erano solo piccoli bambini) con fibrosi cistica qualche decennio orsono. Ovviamente, questo non è per consolarci, ma per dare una visione prospettica dell'impegno che accomuna da decenni medici, ricercatori, malati, famiglie e lungimiranti sostenitori della ricerca. Questa parte della ricerca su terapie "sintomatiche" ancora continua intensamente, perché ancora dovremo fare i conti con i danni importanti che FC ha provocato in gran parte di chi è avanti con l'età e con la necessità di prevenire l'evoluzione della malattia in co-

loro che sono ancora risparmiati da tali danni. L'obiettivo è mantenere buone condizioni di salute nel tempo che ancora ci separa dall'arrivo del nuovo, tempo che può essere più o meno lungo e che va speso ancora all'insegna di una applicazione convinta delle cure tradizionali.

Ma ci premeva in questo seminario fornire anche le nozioni essenziali per capire come nascono e si realizzano gli studi clinici, quelli che consentono di decidere se una cura è efficace, se lo è più di un'altra e se è tollerabile dall'organismo. Questa metodologia della ricerca clinica è importante sia conosciuta dalle persone malate e da coloro che se ne prendono cura a vario livello, perché questa è la parte più difficile e impegnativa della ricerca. E perché è anche quella a cui spesso prendono parte direttamente le persone malate. Conoscere e capire i criteri di rigore metodologico che debbono sostenere la complessità degli interventi medici e della valutazione dei risultati, quando si affronta uno studio clinico, dovrebbe aiutare a cogliere il senso dei tempi e della prudenza necessari per rendere utilizzabili i risultati di tali studi nelle cure di ogni giorno.

C'è la speranza che questi appuntamenti possano aiutare a rafforzare, nelle persone che seguono e sostengono la nostra impresa di ricerca, la comprensione dell'impegno che ci siamo assunti, assieme a molti ricercatori, per aggiungere passo passo nuove conoscenze verso l'ambizioso traguardo di togliere spazio ad una malattia che solo in parte siamo finora riusciti a dominare.

Gianni Mastella



Comprendere e valutare gli studi clinici

Roberto Buzzetti
(Fondazione Ricerca Fibrosi Cistica)

L'idea e il razionale

Qualsiasi tipo di conoscenza in medicina deriva dai risultati degli studi, dapprima di base, poi pre-clinici ed infine clinici. Per trasformare un'idea in un quesito di ricerca clinica esistono vari tipi di studi, dalle semplici osservazioni aneddotiche che supportano le opinioni di esperti, fino all'esperimento più sofisticato.

Uno studio può occuparsi di

- terapia
- diagnosi
- screening
- prognosi
- causalità
- qualità delle cure
- analisi economica
- rassegna bibliografica (review)

*Non basta l'idea
o l'esperienza personale:
occorre lo studio
e la dimostrazione
della bontà/efficacia
dell'idea*

Prima è necessario chiarirsi le idee: che cosa esattamente si desidera conoscere? In che cosa consiste il problema? Si tratta di una malattia grave, diffusa, costosa, impegnativa? Si può pensare a un rimedio efficace, in grado di guarire o prevenire la malattia, o di alleviarne i sintomi?

Che cosa si conosce del problema? Se ne sa già abbastanza (e in questo caso è inutile mettere in piedi una ricerca, basta leggere e applicare quello che la letteratura scientifica ci dice) oppure vi sono dei punti oscuri che necessitano di essere chiariti attraverso uno studio?

Obiettivi e priorità

Dato che qualsiasi studio comporta sempre dei costi elevati, sia di tipo economico, che in termini a volte di sofferenze e rischi per chi vi partecipa, è necessario avere molto chiaro in mente l'obiettivo (perché facciamo questo studio?) e decidere di eseguire soltanto quegli studi fortemente necessari per portare nuove conoscenze e nuove decisioni.

Etica, innanzitutto

Alcuni punti forti, per garantire che lo studio sia rispettoso delle persone (con particolare riferimento agli studi clinici controllati)

Le regole debbono essere chiare

- Deve esservi una reale incertezza tra il trattamento sperimentale e quello tradizionale, detto di controllo, come verrà meglio precisato più avanti
- Vanno offerte a tutti i pazienti tutte le attenzioni, informazioni, protezioni e cure di provata utilità (i partecipanti riceveranno: o il trattamento nuovo, che si vuole sperimentare, oppure la miglior cura esistente)
- Vanno considerati i possibili disagi, compresi quelli economici e psicologici, arrecati ai pazienti dal solo fatto di essere stati inclusi in uno studio
- La dimensione del campione studiato deve essere tale da individuare un ragionevole effetto del trattamento
- Lo studio deve essere approvato da un comitato etico. Va chiesto il consenso ai pazienti dopo aver fornito loro una completa e dettagliata informazione

Dal quesito al progetto (*design*)

Uno studio può essere (vedi oltre)

- descrittivo/analitico
- esaustivo/campionario
- sperimentale/osservazionale. L'osservazionale può essere
 - trasversale o longitudinale; se longitudinale può essere
 - prospettico (studio di coorte)
 - retrospettivo (studio caso-controllo)
- controllato/non controllato
- randomizzato/non randomizzato

Uno studio **descrittivo** si limita a descrivere la situazione, misurando la diversa diffusione di malattie, fattori di rischio, pratiche assistenziali o altro, a differenza dello studio **analitico**, che viceversa ha il compito di chiarire associazioni e nessi causali tra i diversi eventi. Un'indagine **esaustiva** prende in esame la totalità dei soggetti (o "unità statistiche"), mentre con il **campionamento** si recluta un sottoinsieme dei soggetti stessi, ottenendo così delle stime in grado di conciliare in sé le opposte esigenze della precisione e dell'economicità.

Con uno studio **sperimentale** il ricercatore, oltre ad osservare gli eventi, cerca di influenzarne la frequenza o l'intensità con un intervento attivo. Il classico studio sperimentale è il cosiddetto "trial (studio) controllato e randomizzato" (RCT). Nello studio **osservazionale** invece il ricercatore si limita a osservare gli eventi nei diversi gruppi, senza influenzarne il comportamento.

L'esperimento: architettura

Le 4 fasi degli studi clinici

La ricerca clinica viene distinta in 4 fasi.

Fase 1: valuta le caratteristiche principali di un trattamento (meccanismo di azione, tollerabilità, sicurezza). Condotta in genere su un numero ridotto di volontari sani.

Fase 2: valuta l'attività su pochi pazienti.

Fase 3: valuta approfonditamente efficacia e sicurezza di un trattamento, su un ampio numero di pazienti, mettendo a confronto il nuovo trattamento con quello già in uso, o con un placebo (vedi oltre). È il vero banco di prova di un nuovo trattamento, sia con farmaci che con altre procedure (diete, interventi chirurgici, test diagnostici, educazione alla salute, ecc)

Fase 4: studia trattamenti già approvati e in commercio, per valutare specifici aspetti di sicurezza o di efficacia, nella vita reale.

Uno **studio clinico randomizzato** (RCT, *Randomized Controlled Trial*) si propone la valutazione dell'efficacia di una procedura medica (trattamento o altro). La decisione di utilizzare la procedura

sperimentale nei singoli pazienti viene affidata alla “randomizzazione” (assegnazione casuale dei pazienti ai trattamenti a confronto). Per motivi etici uno studio sperimentale di questo tipo può essere effettuato soltanto con trattamenti di cui è incerta l'efficacia.

In sintesi, le tappe di uno studio clinico:

- Si individua un campione di pazienti da un gruppo più ampio, idealmente l'intera popolazione dei pazienti con la malattia in esame. I pazienti vengono selezionati secondo i criteri prefissati di inclusione ed esclusione nel trial (**eleggibilità**).
- I soggetti che hanno formalizzato la loro adesione (aderenti), vengono divisi in due o più gruppi attraverso un procedimento del tutto casuale (**randomizzazione**). Un gruppo riceve dunque il nuovo trattamento in esame (sperimentale) l'altro il trattamento di controllo. La randomizzazione ha il grande vantaggio di rendere simili, mediamente, i due gruppi per loro caratteristiche. Il disegno più comune è quello **parallelo**, in cui due o più gruppi di pazienti eseguono diversi trattamenti. Talvolta, invece, si preferisce uno schema detto **cross-over**, in cui tutti i soggetti eseguono in successione tutti i trattamenti, in modo che ognuno faccia da controllo di se stesso.
- I due (o più) gruppi vengono messi, quando possibile, in condizione di non capire quale trattamento stiano prendendo (**cecità**). I due trattamenti sono contrassegnati da codici segreti non identificabili. Né i medici, né i pazienti sono a conoscenza di quale gruppo stia prendendo il nuovo trattamento e quale quello di controllo, che è identico per colore, sapore, ecc: se il trattamento di controllo non è un farmaco si parla di **placebo** (una sostanza priva di principi attivi specifici, non riconoscibile come tale dal paziente).
- Alla fine dello studio, così come programmato nel protocollo di studio iniziale, si aprono i codici, e si analizzano i risultati. Qualsiasi differenza negli esiti in esame può essere attribuita al tipo di intervento in sperimentazione.

Tappe e criteri perchè i risultati dello studio siano affidabili

Lo studio osservazionale

Mentre tutti concordano sul fatto che, quando possibile, lo **studio sperimentale**, cioè quello che interviene sperimentando un intervento, un test o un composto, è certamente il migliore, il più “robusto”, e nel caso dei farmaci è assolutamente irrinunciabile, in alcuni casi o per motivi etici (es. non si può convincere qualcuno a fumare per vedere se corre maggiori rischi di bronchite) o per problemi di fattibilità, ci si “accontenta” di studi basati sull'osservazione, che peraltro, se ben condotti, possono essere di grande valore, come ad esempio alcuni studi che derivano dai “registri dei malati” per specifiche malattie.

Alcuni studi hanno lo scopo di osservare, altri di intervenire per sperimentare qualcosa di nuovo

Le osservazioni **trasversali** fotografano gli eventi e le relative frequenze all'istante (o comunque in un tempo sufficientemente breve da poter essere considerato quasi nullo); la misura di occorrenza è la **prevalenza**, cioè il rapporto tra numero di soggetti con una certa malattia o condizione ed il numero totale dei soggetti presenti nell'istante considerato.

Gli studi **longitudinali** invece comportano sempre lo studio dei fenomeni nel tempo. In base al tipo di disegno avremo studi di coorte o studi caso-controllo.

Lo studio di **coorte** è così detto perché si effettua su una “coorte” (termine tecnico che indica un gruppo di persone accomunate da una stessa caratteristica, come l'anno di nascita o l'esposizione a fattori comuni, che può condizionare uno o più esiti). La frequenza degli esiti rilevata nella coorte esposta alla caratteristica in studio viene confrontata con quella osservata in un gruppo di persone (coorte di **controllo**) che non abbiano la caratteristica in studio. Tutte le metodologie di valutazione adottate nella coorte in studio dovranno essere identiche a quelle adottate nella coorte di

controllo, in modo tale che i due gruppi differiscano idealmente solo per il fattore di esposizione.

La misura dell'effetto è solitamente assunta come una probabilità, detta "**rischio**" o **incidenza cumulativa** (numero di nuovi casi in un certo periodo di tempo, rapportato al numero di soggetti a rischio all'inizio del periodo), oppure come un **tasso di incidenza** (stesso numeratore, ma al denominatore il prodotto del tempo considerato per il numero persone complessivamente esposte al rischio nel periodo studiato).

Lo schema generale del disegno di coorte è dunque il seguente:

- arruolamento di esposti e non esposti
- studio prospettivo dell'incidenza della malattia in entrambi i gruppi
- confronto delle due incidenze attraverso misure come la differenza o il rapporto delle incidenze (vedi oltre)

Nello studio **caso - controllo** si reclutano pazienti (casi) per valutare l'associazione tra la loro malattia ed esposizioni precedenti (es: fattori di rischio, fattori protettivi, procedure terapeutiche, diagnostiche assistenziali, ecc). La frequenza di esposizione tra i casi viene confrontata con quella osservata in un gruppo di persone (controlli) che non abbiano la malattia in studio. In questo tipo di disegno, detto anche retrospettivo, i due gruppi differiscono idealmente solo per la presenza/assenza della malattia.

Lo schema generale del disegno caso controllo è dunque:

- arruolamento di malati (casi) e non malati (controlli)
- studio retrospettivo della frequenza dell'esposizione (ai fattori di rischio) in entrambi i gruppi
- confronto delle due frequenze attraverso misure di differenza o di rapporto.

Gli elementi dello studio: popolazione / intervento / confronto / outcome

Il protocollo di ricerca contiene un insieme di riflessioni che giustificano lo studio e ne stabiliscono l'obiettivo, e di procedure dettagliate, che andranno seguite rigorosamente nelle varie tappe della ricerca. Tutti gli emendamenti e le violazioni del protocollo di studio vanno esplicitate nella presentazione dei risultati.

I soggetti della ricerca

Importante distinguere tra soggetti eleggibili, arruolati, randomizzati, trattati, ritirati.

Un'oculata scelta dei criteri di inclusione e di esclusione (cioè di quali soggetti saranno ammessi a partecipare allo studio; es: soggetti FC F508del omozigoti, di età superiore a 12 anni, con FEV1 superiore a 60%) permetterà, oltre che la possibile replicazione dello studio anche da parte di altri ricercatori, la definizione della cosiddetta popolazione di riferimento, di quella popolazione, cioè, alla quale i risultati andranno poi riferiti (o, per esattezza, "inferiti") e di conseguenza applicati.

La misura della malattia

È importante definire con molta pignoleria come si intende misurare lo stato di malattia, e i test adatti a descriverla. Sono di grande importanza il controllo della qualità degli strumenti di misura, compresa la "taratura" di eventuali questionari; la riproducibilità e la validità dei test diagnostici eventualmente adottati nello studio per definire lo stato di malattia.

La misura dell'intervento

Analogamente a quanto detto per la malattia, è fondamentale un'accurata descrizione di tutte le

manovre messe in atto per somministrare l'intervento prescelto ai soggetti reclutati. Nel caso di farmaci, andranno precisati posologia, via di somministrazione, eventuali metodi di preparazione del prodotto, ecc

La misura dell'*outcome* (esito, risultato)

Anche per misurare adeguatamente l'esito dell'intervento, è importante la definizione operativa dell'effetto misurato.

Definire in partenza quale risultato sarà considerato la prova dimostrativa

Per esempio, nel caso di un farmaco anti-febbrile, l'effetto potrebbe essere misurato

- come sfebbramento (si/no),
- come misura del decremento febbrile (entità, in gradi, o rapporto tra decremento e valori iniziali)
- come misura soggettiva di benessere, con scale apposite
- come durata dello sfebbramento
- come prontezza del calo febbrile
- valutando l'intero andamento della curva termica, i suoi picchi, l'area, le pendenze...

È utile tener distinti gli esiti nelle seguenti categorie:

- in base all'importanza clinica:
 - esiti clinici **principali** (es.: durata della vita, gravità della malattia, guarigione, disabilità, miglioramento o peggioramento)
 - esiti indiretti (surrogati): indicatori che non sono esiti di per sé stessi, ma misurano indirettamente benefici o rischi clinicamente rilevanti (es.: dati di farmaco-cinetica, misurazioni in vitro, segni indiretti di malattia, marcatori biologici); sono giustificati se la valutazione dei benefici e rischi di interesse non è etica, troppo costosa o troppo invasiva.

Misurare i risultati

L'efficacia del trattamento in studio può essere valutata, nei confronti di un trattamento di riferimento, sia in termini di aumento di frequenza degli eventi favorevoli (es.: risoluzione del dolore) che in termini di diminuzione della frequenza degli eventi sfavorevoli (es.: ospedalizzazioni, esacerbazioni).

L'efficacia può dunque consistere nell'incremento di un beneficio o nella riduzione di un danno. In ambedue i casi si può calcolare il numero di pazienti che devono essere trattati per ottenere un successo in più nei confronti del trattamento di riferimento (NNT=number needed to treat= numero necessario da trattare)

Capire i risultati

Il punto cruciale: questo risultato è importante? L'importanza dei risultati di uno studio è determinata da:

- **quale esito** è stato preso in considerazione. Risultati importanti si ottengono da studi che abbiano valutato esiti principali robusti, "vitali", clinicamente rilevanti (es.: guarigione, ricovero in ospedale, funzione respiratoria, frequenza delle esacerbazioni polmonari, riduzione o scomparsa dei batteri patogeni). Se l'esito è di scarsa rilevanza (es.: un sintomo, un parametro di laboratorio) anche i risultati scaturiti da uno studio perfetto e validissimo avranno scarsa rilevanza clinica.
- **quanto è grande** il beneficio o il rischio del trattamento e la possibilità di modificare, in base ai risultati, le decisioni cliniche. Ogni trattamento, ogni intervento, fornisce dei vantaggi e degli svantaggi. La decisione di utilizzarlo oppure no dipende dalla loro valutazione comparativa. Interventi efficaci, che producono dei vantaggi, vengono scelti se i vantaggi sono reali e di dimensioni ampie in con-

Il rapporto costi/benefici di un trattamento

fronto agli svantaggi: costo, disagio per il paziente, effetti collaterali, per il singolo paziente e per la collettività.

L'intervallo di confidenza (IC). È così chiamato un intervallo di valori che quantifica l'(im)precisione o l'(in)certezza di un certo risultato (ricordiamoci che qualsiasi risultato è ricavato da un campione e non dalla intera popolazione!).

Supponiamo ad esempio di leggere la seguente frase: "la percentuale di pazienti colonizzati da *Pseudomonas aeruginosa* alla fine dello studio è ridotta del 20%, in quanto pari al 50% per cento nel gruppo non trattato e al 30% nel gruppo trattato con il farmaco X ($50\% - 30\% = 20\%$)".

Di solito questa affermazione è accompagnata da una frase del tipo "I.C. 95%: 12%-28%"; questo va interpretato nel senso che "siamo ragionevolmente certi" (95% di probabilità di essere nel giusto) che il vero valore di questa riduzione è compreso tra 12% e 28% come risulta dall'elaborazione statistica che calcola l'intervallo di confidenza tenendo conto dei risultati ottenuti e della numerosità di pazienti di quello studio.

Portare i risultati nella vita quotidiana

Le domande a cui occorre rispondere:

- L'intervento proposto è disponibile, riproducibile, eticamente accettabile?
- Se sì, i pazienti di ogni giorno sono così diversi da quelli che hanno partecipato allo studio, in modo tale da attendersi risultati pure diversi?
- Se sono ragionevolmente simili, quale utilità ne deriva loro?

È cruciale valutare l'utilità, e quindi il bilancio tra alcuni vantaggi ed alcuni svantaggi degli interventi medici, in modo quantitativo. La decisione finale è infatti una sintesi complessa di molte evidenze e di molte considerazioni. Il giudizio del medico, dell'amministratore di salute pubblica, del paziente o di altre figure sociali sull'importanza dei vantaggi e degli svantaggi è e rimarrà un giudizio personale e soggettivo, portatore di interessi e valori etici, che seppure non contrastanti tra loro, possono non coincidere.

Bibliografia essenziale

- Sackett LD, Richardson WS, Rosenberg W, Haynes RB. *Evidence-based Medicine. How to Practice & Teach EBM*. Churchill Livingstone, 1997
- Fletcher HR, Fletcher WS, Wagner HE. *Clinical Epidemiology. The Essentials*. Williams & Wilkins, 1996.
- Elwood M. *Critical Appraisal of Epidemiological Studies and Clinical Trials*. Oxford Medical Publications. Oxford University Press, 1998.
- Sackett LD, Haynes RB, Guyatt HG, Tugwell P. *Clinical Epidemiology. A Basic Science for Clinical Medicine*. Little, Brown and Company, 1991.
- Buzzetti R, Mastroiacovo P. *Le prove di efficacia in pediatria*. UTET Milano, 2000



Le nuove terapie mirate alla correzione del difetto di base in fibrosi cistica: luci e ombre dei trials clinici

Giovanni Taccetti

(Centro Regionale Toscano Fibrosi Cistica, Firenze)

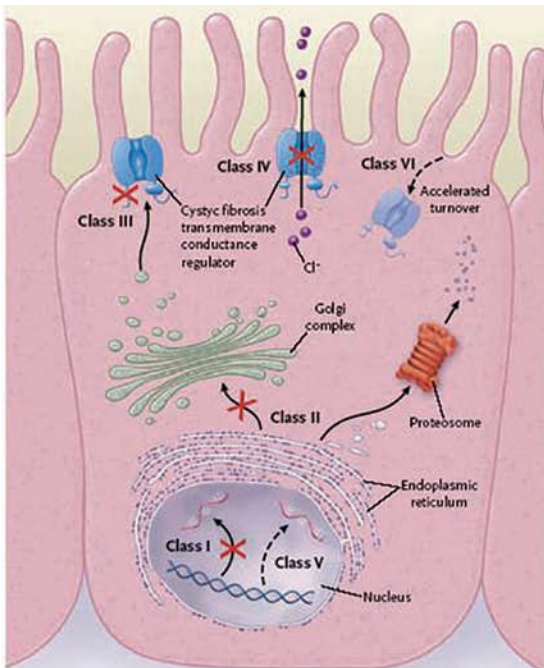
Le conoscenze raccolte negli ultimi vent'anni nel campo della fibrosi cistica (FC), dalla scoperta del gene a oggi, hanno aperto la possibilità a nuove prospettive terapeutiche. Il gene CFTR, le cui mutazioni sono responsabili della malattia, codifica per la sintesi di una proteina di membrana denominata *Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator* (CFTR). Tale proteina, localizzata sulla membrana apicale delle cellule epiteliali, funziona principalmente come canale transmembrana del cloro (ed anche del bicarbonato). La sintesi di una proteina anomala determina l'alterazione del trasporto ionico a livello delle membrane cellulari, con mancato passaggio di cloro (e bicarbonato) e acqua dall'interno all'esterno della cellula. Conseguentemente, in molti organi in cui sono presenti cellule epiteliali secernenti (principalmente bronchi, intestino, pancreas e fegato), si verifica disidratazione delle secrezioni. Si assiste quindi alla comparsa dei sintomi caratteristici della malattia a carico dell'apparato respiratorio e gastrointestinale.

A oggi sono state identificate più di 2000 diverse mutazioni del gene CFTR, non tutte caratterizzate dalla stessa rilevanza clinica. La mutazione* di gran lunga più frequente è chiamata F508del, e costituisce i 2/3 delle mutazioni presenti a livello dei cromosomi di soggetti con malattia FC del Nord Europa e del Nord America. In Italia tale mutazione è meno frequente ed è riscontrata nel 50% circa dei cromosomi. Anche la prevalenza di altre mutazioni può risentire di variazioni regionali. Dal punto di vista funzionale le mutazioni della CFTR possono essere suddivise in 6 classi (Fig.1) sulla base del tipo di difetto che si verifica nel processo di sintesi della proteina:

- classe I - difetto di sintesi: le mutazioni determinano instabilità dell'mRNA* e interruzione prematura della catena polipeptidica nascente. La proteina è quasi totalmente assente. Appartengono a questa classe mutazioni che alterano in vario modo la normale sequenza del gene: mutazioni splicing, frameshift e nonsense (stop).* Es: G542X, 1717-1G->A
- classe II - difetto di maturazione: la proteina CFTR viene parzialmente sintetizzata, ma non raggiunge la membrana cellulare perché viene degradata nell'apparato del Golgi prima di raggiungere la membrana. L'esempio principale è la mutazione F508del, inoltre N1303K.
- classe III - difetto di regolazione: la proteina CFTR viene sintetizzata e si posiziona correttamente sulla membrana cellulare. La sua funzione di canale non può tuttavia essere attivata a causa di mutazioni che interessano i domini di regolazione (R) o di legame con molecole fonti di energia (NBD). Sono per lo più mutazioni missenso che esercitano un difetto di "gating"* (da gate= cancello, il difetto di "gating" è un difetto di apertura del cancello, in questo caso del canale rappresentato dalla proteina CFTR). Es:G551D, S1251N
- classe IV - difetto di conduttanza* (permeabilità al passaggio) transmembrana del cloro: la mutazione è per lo più di tipo missenso, e cade nelle regioni transmembrana, determinando un ridotto trasporto di cloro. Es: R117H, R334W
- classe V - difetto di splicing* con riduzione della produzione di normale CFTR: la mutazione

causa instabilità dell'mRNA rallentando la trascrizione genica. Viene a essere prodotta solo una modesta quota di proteina CFTR. Può verificarsi anche uno splicing alternativo con sintesi di proteina in parte alterata e in parte normale, ma in quantità ridotta. Es: 3849+10kbC->T

- classe VI - accelerato turnover (ricambio) a livello della superficie cellulare. Il difetto può riguardare mutazioni appartenenti a varie classi; interessa la stessa F508del



CLASSIFICAZIONE DELLE MUTAZIONI DEL GENE CFTR

- Classe I. Mutazioni che provocano difetto di sintesi (G542X)
- Classe II. Difetto di processamento (F508del, N1303K)
- Classe III. Difetto della regolazione (G551D)
- Classe IV. Difetto di conduttanza (R117H)
- Classe V. Sintesi ridotta per difetto di splicing (3849+10kb)
- Classe VI. Instabilità e turnover accelerato

Fig 1 - La figura rappresenta una cellula dell'epitelio bronchiale, delimitata in alto dalla membrana apicale con le sue estroflessioni (cilia vibratili). In basso, sopra al nucleo (*nucleus*), si trova il reticolo endoplasmico (*endoplasmic reticulum*), in cui avviene la prima fase di maturazione della proteina CFTR. Più in alto, a destra, il proteasoma (**proteasome** di colore arancione), un complesso proteico deputato a eliminare, degradandola, la proteina CFTR riconosciuta dal reticolo endoplasmico come non adatta alla maturazione; a sinistra (colore verde) è l'apparato del Golgi (*Golgi complex*), una struttura in cui procede la maturazione della CFTR non rimossa dal proteasoma. La proteina CFTR che è riuscita a maturare, anche se in modo imperfetto, si colloca sulla membrana apicale. A livello della membrana apicale sono rappresentate due proteine CFTR di classe III e IV, che sono difettose, e una di classe VI che, pur avendo raggiunto integra la membrana, ha vita breve e viene rapidamente degradata per eccesso di ricambio (*accelerated turnover*). Le mutazioni di classe I (sintesi mancata o interrotta) e quelle di classe V (scarsa sintesi parziale di CFTR normale) sono indicate nel nucleo. In caso di mutazioni di classe II (Class II, come F508del), la proteina CFTR, pur essendo stata processata nel reticolo endoplasmico, non riesce per la massima parte a superare l'apparato del Golgi e viene rimossa dal proteasoma. Fig. tratta da NEJM 2005, 352(19):1992

Questa classificazione ha indubbia utilità dal punto di vista teorico; la ricerca ha però dimostrato che, in alcuni casi, la mutazione può essere responsabile di molteplici effetti e quindi appartenere a più di una classe funzionale. È questo il caso della mutazione F508del, in cui solo una modesta quota di proteina alterata arriva a posizionarsi sulla membrana cellulare; inoltre, una volta collocata, mostra anche anomalie di attivazione e ridotta permanenza in sede (quindi difetti sia di classe II che di classe III). I farmaci in grado di influire sulla funzione della proteina sono detti modulatori di CFTR. Due diversi tipi di farmaci "modulatori", potenziatori e correttori, attivi con meccanismi diversi in relazione ai diversi tipi di malfunzionamento della CFTR, sono stati sperimentati nei malati e introdotti in terapia per alcuni di loro.

Farmaci Potenziatori

I potenziatori incrementano il tempo in cui la CFTR permane in forma attivata a livello delle membrane cellulari (e quindi il canale CFTR rimane più a lungo aperto per il passaggio del cloro).

Alcune mutazioni delle classi III e IV, conosciute rispettivamente per riduzione dell'attività "gating"* e per deficit della conduttanza*, sono le categorie che si candidano a rispondere alla terapia con potenziatori, ma ogni mutazione che

I farmaci potenziatori agiscono sulla proteina CFTR purchè sia presente sulla membrana cellulare

permetta alla proteina CFTR di arrivare sulla membrana e lì esercitare un certo funzionamento (sono mutazioni chiamate "con funzione residua" e sono alcune mutazioni della classe II o alcune di *splicing** della classe V) potrebbe in qualche modo beneficiarne.

La prima mutazione in cui è stata dimostrata l'efficacia di un trattamento con un farmaco potenziatore è la mutazione G551D. Essa è una mutazione missenso che determina un difetto "gating" ed è presente solo nel 4-5% dei soggetti con FC. Agendo in un punto critico impedisce l'attivazione del canale della CFTR, con conseguente difetto di passaggio di cloro. In uno studio sperimentale l'aggiunta di ivacaftor (kalydeco) a cellule dell'epitelio bronchiale di pazienti con G551D ha aumentato la risposta della CFTR (misurata come percentuale del normale trasporto di cloro) da 0-5% a 35-50%. Grazie a questa osservazione sono iniziati i trials clinici con ivacaftor in soggetti con questo tipo di mutazione.

I primi studi condotti hanno dimostrato, in pazienti di età superiore a 12 anni con almeno una copia di G551D, un miglioramento consistente del FEV1 (incremento medio assoluto* di FEV1 del 10% ottenuto abbastanza precocemente e mantenuto a 24 settimane nel gruppo trattato con ivacaftor rispetto al gruppo di controllo in placebo), un miglioramento dello stato nutrizionale e una diminuzione delle esacerbazioni. È stato osservato un effetto notevole anche nella riduzione del cloro sudorale (riduzione media di circa 50 mEq/L)

IL POTENZIATORE IVACAFTOR IN SOGGETTI CON MUTAZIONE G551D

INCREMENTO DEL VALORE DI FEV1

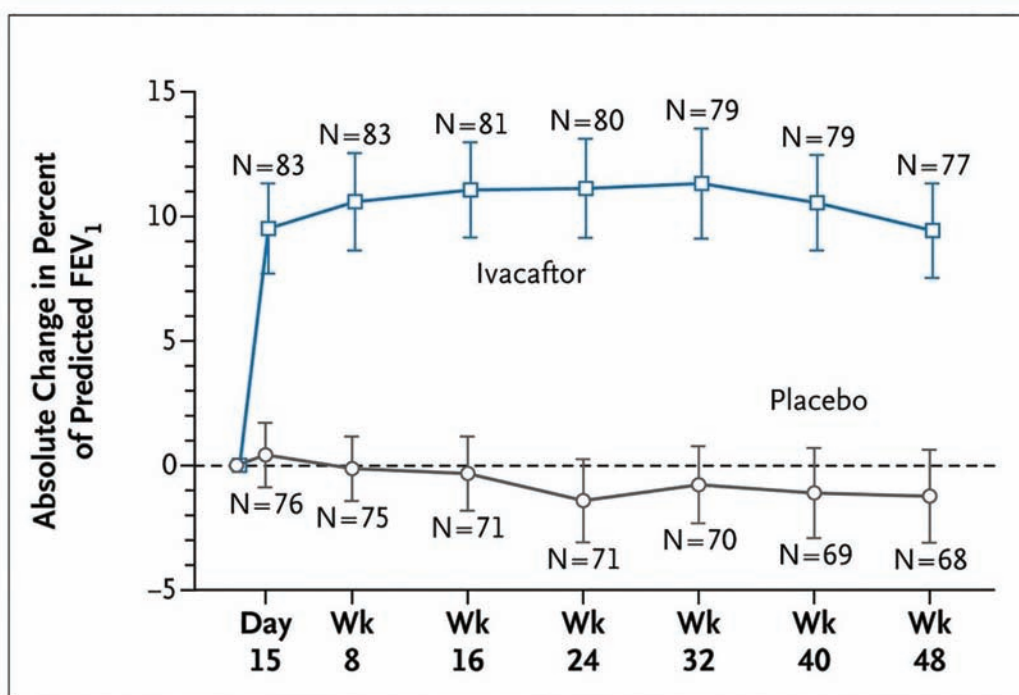


Fig 2 - Lo studio clinico di fase III ("Strive") ha incluso 161 soggetti con fibrosi cistica e una mutazione G551D, a partire dai 12 anni di età. Il potenziatore Ivacaftor è stato somministrato per bocca per un anno. Il grafico mostra che l'incremento medio assoluto del valore di FEV1 è stato del 10% (passando ad esempio dal 65% al 75%). Fig. tratta da N ENGL J MED 2011; 365,1663

Studi successivi hanno dimostrato non solo la persistenza del miglioramento clinico, ma anche gli effetti su clearance mucociliare* e pH gastrointestinale* e status microbiologico. In particolare, è stata osservata una diminuzione della frequenza degli isolamenti di *P. aeruginosa*, soprattutto in pazienti con infezione intermittente. Il significato clinico di questa osservazione microbiologica necessita di ulteriori conferme. L'efficacia dell'ivacaftor è stata dimostrata successivamente anche in soggetti con almeno una mutazione "gating" diversa da G551D (G1244E, G1349D, G178R, G551S, S1251N, S1255P, S549N e S549R) ed anche in bambini da 2 a 5 anni. In sostanza, la monoterapia con ivacaftor ha dimostrato di essere efficace e indurre un beneficio consistente nei confronti delle mutazioni che provocano un difetto di "gating".

Trial clinici con il potenziatore Ivacaftor attivo su mutazioni gating e su R117h, autorizzato in USA ed Europa per grandi e piccoli

Per quello che riguarda l'Europa, Ivacaftor è stato approvato dall'EMA (*European Medicines Agency*, Comitato europeo per i medicinali per uso umano) e successivamente nel nostro Paese (Gazzetta Ufficiale 4/5/2015) per l'uso in soggetti FC, di età pari o superiore a 6 anni, che presentino una mutazione "gating". In seguito EMA ha autorizzato l'immissione in commercio di ivacaftor anche per i bambini affetti da fibrosi cistica di età dai 2 ai 5 anni con mutazioni "gating". Il farmaco ha confermato anche nelle età più basse di produrre importante diminuzione del cloro sudorale e immediato miglioramento dello stato nutrizionale.

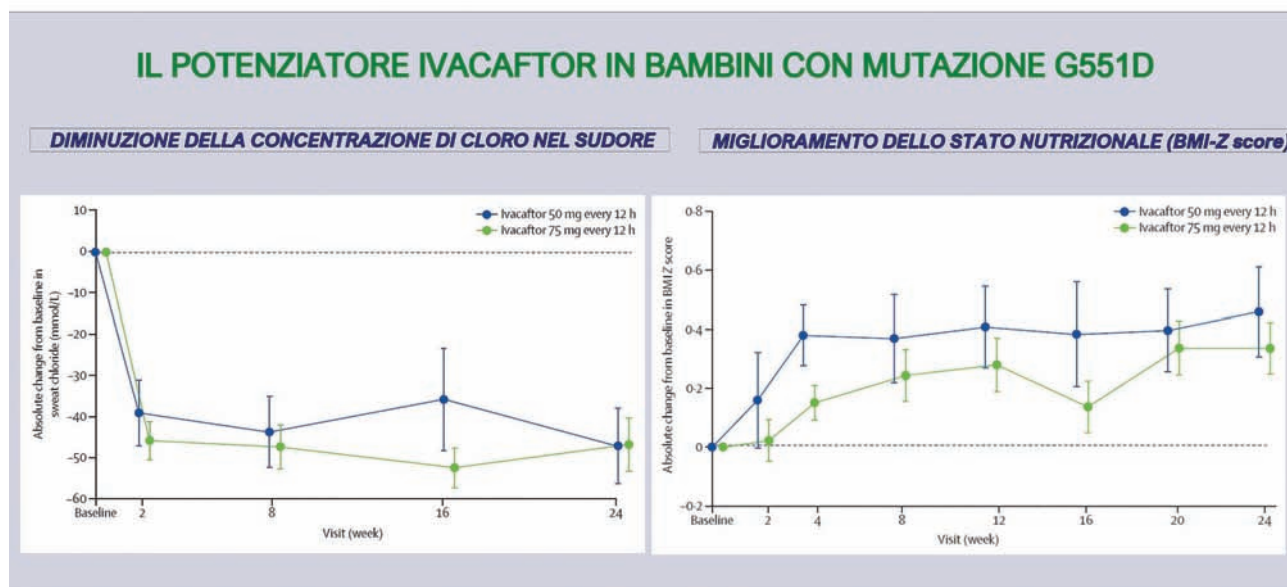


Fig 3 e 4 - Lo studio clinico di fase III ("Kiwi") ha incluso 34 bambini di età compresa fra i 2 e i 5 anni. Ivacaftor è stato somministrato per bocca per 6 mesi, 10 bambini sono stati trattati con 50 mg di Ivacaftor due volte al giorno, 24 bambini sono stati trattati con 75 mg due volte al giorno. Nella figura 3 si nota come la concentrazione di cloro nel sudore diminuisca a partire dalla seconda settimana di trattamento. La diminuzione si mantiene nell'arco dei 6 mesi di trattamento e (mettendo insieme tutti i soggetti) è mediamente di -46.9 mmol di cloro. Nella figura 4 si nota come il valore di BMI-Zscore (*Body Mass Index* Indice di massa corporea, una misura dello stato di nutrizione) aumenti a partire dalla seconda settimana: l'aumento si mantiene nell'arco dei 6 mesi di trattamento e, mettendo insieme tutti i soggetti, è mediamente di 0.4 punti di BMI-Zscore (miglioramento dello stato nutrizionale discreto-buono).

Fig. tratta da LANCET RESPIR MED 2016; 4(2): 107

È stato notato un rialzo delle aminotransferasi (enzimi epatici)* in bambini nei quali il livello era già elevato prima della terapia. Tale rialzo è rientrato alla sospensione del farmaco. Accanto al giustificato entusiasmo per l'efficacia dimostrata dal farmaco in pazienti con mutazioni *gating* è necessario riflettere che solo una limitata percentuale di pazienti affetti FC ha questo tipo di mutazioni. Tale percentuale è ancora più bassa nei Paesi dell'area mediterranea. Infine Ivacaftor è stato sperimentato anche in soggetti con almeno una mutazione R117H, una mutazione missenso con difetti caratteristici di classe III-IV. In pazienti oltre i 18 anni di età ivacaftor ha determinato un incremento medio del valore assoluto di FEV1 pari al 5%. Su questa base l'agenzia di regolazione nord-americana FDA ha recentemente approvato l'uso di ivacaftor in pazienti con R117H. Anche l'EMA ha approvato ivacaftor anche per i soggetti di età pari o superiore a 18 anni con mutazione R117H.

Presso FDA (l'agenzia USA per i farmaci) è in corso di valutazione l'indicazione all'uso di ivacaftor anche per un gruppo di mutazioni *missense* o *splicing* caratterizzate dal fatto di avere una "funzione CFTR residua" (2789+5G->A, 3849+10kbC->T, 3272-26A->G, 711+3A->G, E56K, P67L, R74W, D110E, D110H, R117C, L206W, R347H, R352Q, A455E, D579G, E831X, S945L, S977F, F1052V, R1070W, F1074L, D1152H, e D1270N).

Farmaci correttori

I correttori sono molecole che mirano a recuperare la funzione della CFTR agendo sulle fasi del "processamento"*, vale a dire il processo in cui la proteina passa dalla forma immatura a quella matura in modo da arrivare a svolgere la sua funzione di canale sulla membrana.

Poiché il 75% circa dei pazienti su scala internazionale ha almeno un allele F508del, l'obiettivo principale della ricerca è focalizzato sulla sintesi di farmaci attivi nei confronti di questa mutazione. La F508del tuttavia influenza molto più pesantemente la struttura e la funzione delle proteina CFTR rispetto a G551D perché viene a essere compromessa sia la maturazione della proteina che la sua funzione di canale. Si verifica inoltre per questa proteina un'alterazione della sua "stabilità" (la tendenza della proteina a mantenere la sua struttura originaria, detta "nativa") e rimane il problema di un "gating" anormale. Di qui la necessità di trattare i soggetti F508del omozigoti non solo con farmaci che recuperino la funzione della proteina, salvando il suo percorso all'interno della cellula (correttori), ma anche con farmaci (potenziatori) che agiscano sulla quota di proteina che è arrivata in membrana.

Il potenziatore ivacaftor, quando usato da solo in pazienti con F508del, non ha portato ad alcun beneficio clinico. Questa osservazione ha suggerito di passare a sperimentare i "correttori" (ad es. lumacaftor), il cui maggior effetto sembra la stabilizzazione della proteina CFTR. Studi condotti in laboratorio su cellule epiteliali bronchiali di pazienti omozigoti F508del hanno evidenziato che lumacaftor determina un modesto incremento (14%) del trasporto di cloro e quindi dell'attività della CFTR. Quando lumacaftor è stato sperimentato da solo nei malati non è stata notata efficacia. È stata allora sperimentata la terapia "in combinazione", che consiste nell'associare lumacaftor a ivacaftor. In questo caso la funzione di canale studiata in laboratorio poteva aumentare fino al 50-100%.

Visti i buoni risultati di laboratorio, sono stati condotti studi clinici su un numero elevato di pazienti omozigoti F508del. Nello studio clinico è stata sperimentata la diversa efficacia di 2 diversi dosaggi di lumacaftor (400 mg due volte al giorno o 600 mg una volta al giorno) associati a ivacaftor 250 mg due volte al giorno. Indipendentemente dal dosaggio, la risposta clinica è stata meno buona di quella laboratoristica. Nel corso dello studio, della durata di 24 settimane, l'incremento medio assoluto* del FEV₁, è stato molto modesto per entrambi i dosaggi, con lieve ma non significativo vantaggio per la dose più bassa (600 x1).

Il trial clinico con il correttore Lumacaftor combinato con Ivacaftor (Orkambi) in soggetti F508del/F508del mostra risultati meno convincenti

LUMACAFITOR + IVACAFTOR IN SOGGETTI F508del / F508del

INCREMENTO DEL VALORE DI FEV₁

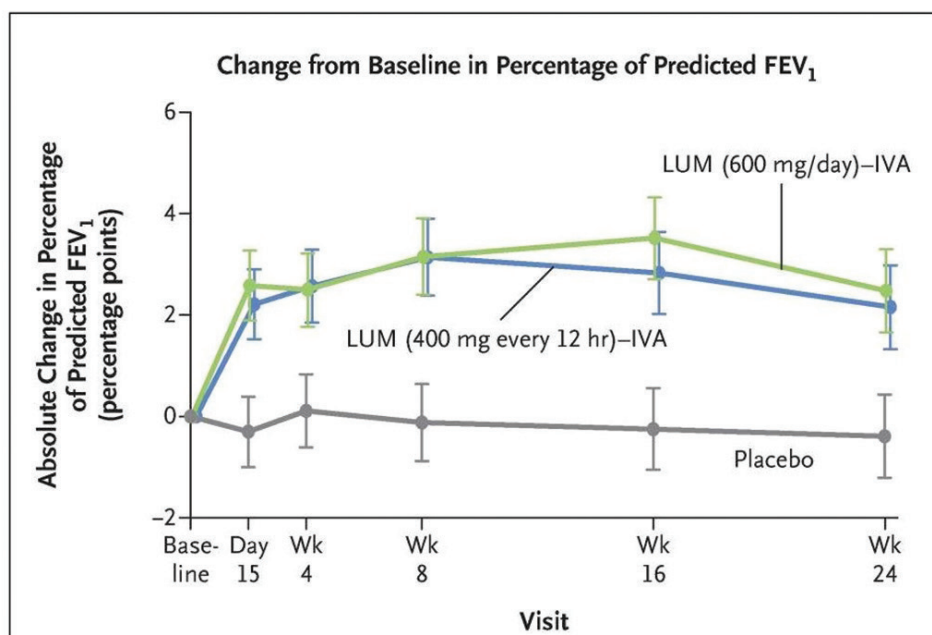


Fig 5 - Gli studi clinici di fase III ("Traffic" e "Transport") hanno incluso complessivamente 1108 soggetti con F508del in doppia copia, di età sopra i 12 anni. Nello studio sono stati utilizzati due diversi dosaggi del correttore Lumacaftor (LUM rispettivamente 600 mg una volta al giorno e 400 mg due volte al giorno), in entrambi i casi in associazione al potenziatore Ivacaftor (IVA 250 mg due volte al giorno). Il trattamento è stato somministrato per 6 mesi. Il miglioramento medio assoluto del FEV₁ è stato del 2.8% con il dosaggio maggiore (linea azzurra) e del 3.3% con il dosaggio minore (linea verde). Fig. tratta da N ENGL J MED 2015; 373: 220

L'analisi statistica ha comunque mostrato una riduzione della frequenza di esacerbazioni nel corso di trattamento, rispettivamente del 30% e del 39% nei pazienti trattati con lumacaftor+ivacaftor rispetto al gruppo di controllo. E una qualche differenza è stata osservata anche per quanto riguarda gli indici nutrizionali. In sostanza, a differenza di quanto si era precedentemente verificato in pazienti con mutazioni di classe III trattati con solo ivacaftor, negli omozigoti F508del in trattamento con associazione lumacaftor+ivacaftor (orkambi) è stato osservato solo un modesto miglioramento della funzione **polmonare**.

LUMACAFTOR + IVACAFTOR IN SOGGETTI F508del / F508del

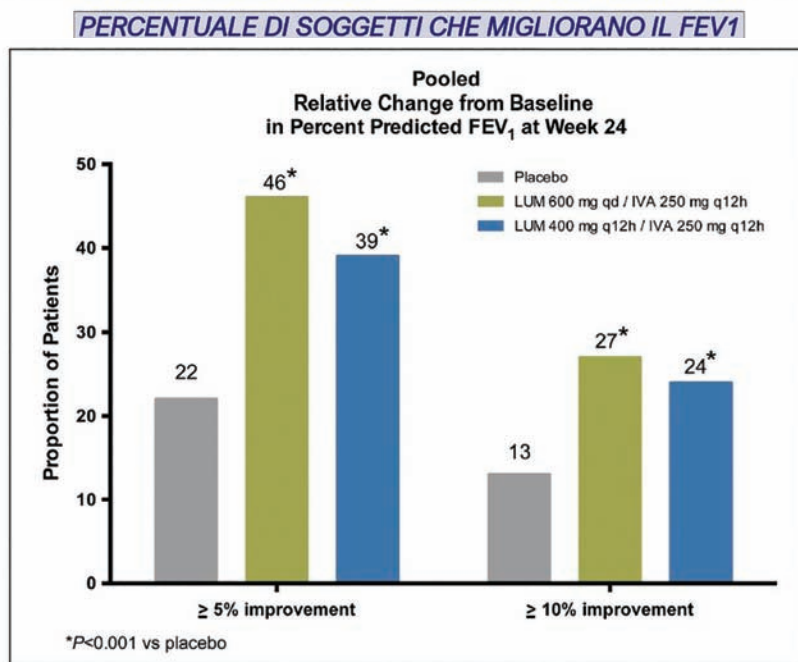


Fig 6 - Con il dosaggio Lumacaftor 600 mg una volta al giorno + Ivacaftor 250 mg due volte al giorno, barre di colore verde), il 46% dei soggetti trattati ha, come media, incremento assoluto di FEV1 uguale o superiore al 5%; il 27% dei soggetti ha un incremento uguale o superiore al 10%. I restanti non hanno registrato incremento di FEV1 oppure hanno evidenziato una sua diminuzione. Con il dosaggio Lumacaftor 400 mg due volte al giorno + Ivacaftor 250 mg due volte al giorno (barre di colore azzurro) il 39% dei soggetti trattati ha, come media, un incremento assoluto di FEV1 uguale o superiore al 5%; il 24% dei soggetti ha un incremento uguale o superiore al 10%. I restanti non hanno registrato incremento di FEV1 oppure hanno evidenziato una sua diminuzione. Nei pazienti trattati con placebo, il 22% dei soggetti ha, come media, un miglioramento di FEV1 in misura uguale o superiore al 5%; il 13% dei soggetti ha un incremento del FEV1 in misura uguale o superiore al 10%. I restanti non hanno registrato incremento di FEV1 oppure hanno evidenziato una sua diminuzione. Fig. tratta da N ENGL J MED 2015; 373: 220

Nonostante i limitati successi dello studio clinico, *L'European Medicines Agency* ha concesso l'autorizzazione all'immissione in commercio di lumacaftor+ivacaftor per i soggetti FC di età pari o superiore a 12 anni con due copie della mutazione F508del.

L'effetto avverso più consistente dell'associazione lumacaftor+ivacaftor è stato l'incremento dell'attività delle amino transferasi* (enzimi epatici), che tuttavia è stato osservato in un numero limitato di pazienti. L'associazione non migliora la situazione clinica nel caso sia presente una sola copia di F508del. Quindi non sono candidati al trattamento con questa associazione soggetti che hanno nel genotipo F508del in combinazione con altra mutazione diversa. Data la limitata esperienza finora maturata nel campo dei modulatori, molte problematiche legate alla loro somministrazione (soprattutto lumacaftor+ivacaftor) hanno la necessità di essere meglio approfondite.

Studi in corso e futuri programmi:

Attualmente si percepisce a livello scientifico la ferma determinazione di incentivare gli sforzi e di offrire a tutti i pazienti FC, indipendentemente dal loro genotipo, una terapia efficace sul difetto di base. I limitati benefici dell'associazione lumacaftor+ivacaftor depongono chiaramente per la necessità di spingere la ricerca verso altre molecole, che potranno essere usate solo dopo un'attenta verifica dell'efficacia e della sicurezza.

Il programma VX-661

La ricerca sulla combinazione di correttori/potenziatori ha subito un impulso eccezionale. VX-661 è un correttore che ha un meccanismo d'azione simile a lumacaftor ma sembra avere proprietà farmacologiche più vantaggiose. VX-661 risulta attivo in associazione con ivacaftor ma rispetto a lumacaftor è più raramente associato a episodi di broncospasmo. L'idea è quella di migliorare l'effetto della combinazione ivacaftor+lumacaftor, utilizzando il nuovo correttore insieme al potenziatore già dimostratosi efficace. Sono attualmente in corso trials clinici con VX-661 non solo in pazienti con F508del in doppia copia (omozigoti*), ma anche in pazienti con una sola copia di F508del (eterozigoti* F508del) accompagnata da una seconda mutazione. Inoltre VX-661 sarà sperimentato anche in pazienti con mutazioni "gating" responsivi a ivacaftor, nella ricerca del massimo effetto in tutti i pazienti FC.

Trial con nuovi correttori e nuove combinazioni di farmaci in soggetti con F508del in doppia copia, ma anche in singola copia e accompagnata da altra mutazione

Studi con altri correttori e potenziatori

Altri correttori, definiti di "next generation" (nuova generazione), come VX-440 e VX-152 in monoterapia (terapia con un solo farmaco) o in tripla associazione (il correttore di nuova generazione insieme al correttore VX-661 e a ivacaftor) hanno iniziato la fase di sviluppo. VX-440 e VX-152 sono progettati per migliorare il processamento della proteina CFTR-F508del e il suo trasporto a livello della superficie cellulare. La tripla associazione in vitro sembra avere efficacia considerevole sul trasporto transmembrana di cloro rispetto all'associazione dei soli lumacaftor+ivacaftor, sempre in cellule di soggetti sia omozigoti che eterozigoti F508del.

Oltre a Vertex anche altre case farmaceutiche hanno in programma studi con tripla associazione di nuove molecole (Es. GLPG2665 in combinazione con il correttore GLPG2222 e il potenziatore GLPG1837). Altri composti (Riociguat, QBW251, N91115 e QR-010), principalmente rivolti a soggetti omozigoti F508del, hanno iniziato il loro percorso relativo alla valutazione dell'efficacia e della sicurezza. QR-010 si propone come modalità di "terapia genica" del tutto innovativa, con un intervento di riparazione su mRNA* senza uso di rischiosi virus vettori. Da segnalare anche gli studi con molecole che riattivano il meccanismo dell'autofagia* cellulare (cisteamina e epigallocatechingallato o EPCG).

Meccanismi di approccio su altri canali transmembrana

Sono in corso di studio anche composti dotati di efficacia non tanto su CFTR ma su canali alternativi presenti a livello della membrana cellulare. Tali composti hanno efficacia teorica in qualsiasi tipo di mutazione. L'inibizione del riassorbimento del sodio a livello del canale del sodio ENaC consentirebbe di migliorare lo stato di idratazione delle mucose: un inibitore del canale del sodio conosciuto con il nome di VX-371, in associazione o meno con soluzione ipertonica salina (acqua con concentrazione di sale al 4,2%), è in fase di valutazione in omozigoti F508del.

Ataluren

È un farmaco con azione sulle mutazioni stop, vale a dire quelle mutazioni che interrompono la sintesi della proteina inserendo un segnale di stop nel RNA messaggero. Il farmaco, somministrabile per via orale, è stato sperimentato in un trial randomizzato condotto su pazienti di età superiore a 6 anni ed ha visto la partecipazione di 232 pazienti, la metà dei quali trattati con placebo. Tutti i pazienti avevano almeno una mutazione di classe I "nonsense" (ad es W1282X, G542X, R1162X e R553X). Lo studio, della durata di 48 settimane, non ha evidenziato differenze statisticamente significative per quanto riguarda la variazione dei valori di FEV1 e la percentuale di esacerbazioni polmonari nei 2 gruppi posti a confronto. Tuttavia, un'analisi statistica successiva ha evidenziato che il sottogruppo di pazienti trattati con ataluren, ma non in trattamento con tobramicina per via inalatoria, presentava un aumento significativo del FEV1 e una significativa riduzione del numero di esacerbazioni respiratorie. Questi dati inducono a pensare che ataluren potrebbe essere un farmaco efficace in pazienti con mutazioni stop (circa il 10% di tutti i pazienti con FC) che non ri-

Ataluren riavvia la sintesi della proteina interrotta da mutazioni stop

cevano concomitante trattamento con tobramicina per via inalatoria. Su queste basi è stato riproposto uno studio clinico di fase 3 i cui risultati saranno disponibili nel corso del 2016. Attualmente Ataluren è in fase di valutazione dell'EMA.

Il percorso del farmaco fra i risultati degli studi clinici e l'immissione in commercio

Come arriva la pillola in tasca?

Quando un nuovo farmaco è stato sperimentato su grande numero di pazienti (trial clinico di fase III), i risultati vengono comunicati al mondo scientifico attraverso canali che sono rappresentati soprattutto dalla pubblicazione su riviste scientifiche di grande impatto. Più i risultati sono convincenti, maggiore è l'impatto e il consenso scientifico indotto. L'industria produttrice del farmaco a questo punto deve chiedere agli organi preposti la valutazione dei risultati e l'autorizzazione alla immissione in commercio. Gli organi preposti sono la FDA (*Food and Drugs Administration*) negli USA e l'EMA (Agenzia Europea per i Medicinali) in Europa. Solo se approvati dall'EMA i farmaci passano alla valutazione delle agenzie di regolazione nazionali, nel caso dell'Italia a AIFA (Agenzia Italiana per il Farmaco). AIFA avvia la procedura per l'immissione in commercio del farmaco attraverso una commissione scientifica valutatrice e un comitato per la negoziazione dei prezzi. L'azienda produttrice tratta il costo del nuovo farmaco con AIFA, che ne decide la sostenibilità o meno da parte del Servizio Sanitario Nazionale.

Conclusioni

Negli ultimi anni la ricerca in campo FC è andata incontro a consistenti progressi. I risultati sono andati oltre le aspettative e sono oggi a disposizione farmaci attivi nei confronti del difetto di base. L'approccio farmacologico con ivacaftor in pazienti con mutazioni "gating" ha portato a risultati consistenti e l'efficacia del trattamento, espressa in termini di miglioramento del FEV1, è stata superiore a quella di tutte le altre categorie di farmaci precedentemente introdotte in terapia (ad es DNase o antibiotici per via inalatoria).

La stessa cosa non è successa con la combinazione di lumacaftor+ivacaftor nel trattamento dei pazienti F508del omozigoti. In questo caso sono stati raggiunti risultati inferiori a quanto auspicato. Già prima che entri in commercio nel nostro Paese sappiamo che l'associazione lumacaftor+ivacaftor ha un'attività non ottimale nel correggere la CFTR e per questo motivo sono in corso ulteriori studi per valutare nuove associazioni di correttori e potenziatori.

Quali età dei malati sono prioritarie per l'inclusione nei nuovi trial?

Accanto ai progressi finora ottenuti è necessaria tuttavia anche un'attenta riflessione sui limiti mostrati dalla ricerca nel campo dei modulatori. Inoltre, i pazienti con mutazioni molto "rare" sono stati finora "esclusi" dai trials clinici riguardanti ivacaftor e l'associazione lumacaftor+ivacaftor. Ma tali pazienti potrebbero in futuro trarre vantaggio dai trials clinici riguardanti i canali transmembrana alternativi a CFTR (ENaC) o da nuove modalità terapeutiche. Solo pazienti di 6 anni o più anni sono stati inizialmente inclusi nei trials clinici. Questa scelta è dettata dai limiti imposti dalle agenzie regolatorie a tutela delle classi di età più indifese. Gli studi in bambini di età pre-scolare debbono anche tener conto della necessità di valutare l'efficacia del trattamento attraverso indicatori diversi dal classico FEV1, il test di funzionalità respiratoria che i piccoli non sono in grado di eseguire e certe definizioni e procedure dovranno essere meglio riviste e standardizzate. Rimane ancora da valutare la tempistica ideale per l'introduzione in terapia dei nuovi farmaci. Poiché uno dei concetti che negli ultimi anni ha governato la strategia dell'approccio al paziente FC è stato l'intervento in fase precoce della malattia, è probabile che anche i nuovi farmaci siano più efficaci se utilizzati nelle fasi iniziali della malattia. La conferma di tale ipotesi deve tuttavia basarsi sui risultati dei trials clinici in corso e sui dati riguardanti la sicurezza delle molecole in studio.

Il nostro Paese è complessivamente ben inserito nel contesto della ricerca sui nuovi prodotti e fa

parte di un sistema europeo ben funzionante per il reclutamento e la partecipazione ai trials clinici in FC. Non tutti gli studi clinici sui nuovi farmaci potranno essere condotti in ogni singolo centro FC. In Italia c'è necessità di coordinare le risorse anche per consentire l'accesso del maggior numero possibile di pazienti ai trials clinici. Nello stesso momento ci si chiede quali studi (per quali mutazioni?) debbano essere prioritari. Il modello vincente che si è consolidato negli ultimi anni tuttavia non è stato solo lo sviluppo di farmaci, ma la sinergia fra le esigenze dei pazienti, l'industria e i professionisti che erogano le cure. È questo modello che va coltivato anche in prospettiva. Sempre in prospettiva vanno pensati studi che sorveglino gli eventuali effetti indesiderati dei nuovi farmaci dopo la loro commercializzazione. La ricerca nel campo dei modulatori ha necessità di integrarsi con la ricerca in altri campi. Continua ad essere valida la riflessione che finora il miglioramento complessivo del paziente non è ascrivibile ad un solo tipo di trattamento. Va quindi mantenuta alta l'attenzione dei pazienti nei confronti di quelli che sono gli standard di cura offerti dai centri FC e l'aderenza nei confronti dei trattamenti tradizionali.

Infine, l'alto costo delle cure impone l'appropriatezza prescrittiva nei confronti dei pazienti che potrebbero trarre sostanziale beneficio dai modulatori già in commercio e da quelli che arriveranno nei prossimi anni.

GLOSSARIO

Nel testo alcune parole sono accompagnate da asterisco: il simbolo indica che il significato di quella parola è spiegato nell'elenco seguente*

Allele: si dice di ciascuna delle due copie di un gene che regola una caratteristica dell'individuo, come per esempio il colore degli occhi o i capelli lisci piuttosto che ricci. Poichè possediamo 2 copie di ciascun cromosoma, una copia di derivazione paterna e una copia di derivazione materna, possediamo 2 copie di ciascun gene addetto ad una specifica funzione e queste 2 copie sono chiamate "alleli", ciascuna con caratteristiche particolari individuali

Aminoacido: unità strutturale primaria di ogni proteina

Aminotransferasi (o transaminasi): sono enzimi prodotti normalmente dal fegato; il loro livello aumenta nel sangue quando le cellule del fegato subiscono in varia misura un insulto.

Autofagia: processo biologico di degradazione selettiva delle proteine cellulari attraverso i lisosomi, appositi organelli preposti alla distruzione sia di molecole estranee che di molecole endogene.

Catena polipeptidica: la sequenza di aminoacidi che costituisce una proteina

Cellule epiteliali: cellule che formano il rivestimento (epitelio) interno o esterno di molti organi o tessuti del corpo

CFTR: dall'inglese "*Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator*", è la sigla di una proteina che in condizioni normali funziona come un "canale" per il cloro, permette cioè il trasporto del cloro dentro o fuori dalla cellula, secondo l'organo interessato. Le sue alterazioni sono alla base della FC.

Clearance mucociliare: il meccanismo di rimozione di polveri, inquinanti, batteri e altro esercitato dal liquido che solitamente mantiene umidificate le vie respiratorie, il naso, la bocca e l'intestino (prodotto dalle ghiandole che si trovano in questi organi). A livello di naso e bronchi vi concorrono le ciglia vibratili di cui le cellule epiteliali sono dotate. Nella FC, essendo il liquido particolarmente denso e poco scorrevole, ristagna, favorendo le infezioni da parte di particolari batteri.

DNA: molecola chimica a forma di doppia elica contenente composti zuccheri-fosfato e composti contenenti azoto. Codifica per tutte le proteine del nostro organismo. L'Unità di DNA che codifica per una determinata proteina è per definizione il gene di questa.

Dominio: unità strutturale di una proteina.

Epitelio respiratorio: tessuto caratterizzato da cellule epiteliali ("di rivestimento") strettamente affiancate che tappezzano le vie aeree. Queste cellule hanno la caratteristica di possedere ciglia vibratili per la rimozione delle secrezioni e dei batteri.

Eterozigote: un soggetto eterozigote per un certo gene ha i due alleli (vedi) differenti di quel

gene. Nel caso della FC, vi può essere un allele normale accoppiato con un allele mutato ("eterozigote" o portatore sano); oppure vi possono essere due alleli diversi, però entrambi mutati. In questo secondo caso il soggetto ha due mutazioni diverse nel proprio genotipo: si dice "eterozigote" perché il genotipo è composto da due mutazioni diverse (si dice anche eterozigote composto), e "malato" perché la presenza di due mutazioni è quella che determina la malattia.

FEV1: misura della funzionalità respiratoria. Consiste nel volume d'aria emesso nel primo secondo di espirazione forzata, dopo un'inspirazione profonda completa. Esprime il grado di pervietà (apertura) delle grosse e medie vie aeree

Geni: sono sequenze di DNA che si trovano nei cromosomi, a loro volta contenuti nel nucleo di tutte le cellule dell'organismo. Controllano i diversi caratteri ereditari, determinando o influenzando sulle caratteristiche fisiologiche e anatomiche tipiche di ogni soggetto. Il gene responsabile della fibrosi cistica è il gene CFTR mutato

Mutazione genetica: cambiamento permanente nella sequenza del DNA che compone un gene, tale da renderlo diverso dalla sequenza normale. Altera la funzione di cui quel gene è responsabile. Può avere dimensioni diverse, da puntiformi (cambiamento di una singola base del DNA) a estese tali da implicare un riarrangiamento della struttura del gene.

Tipi di mutazione (da non confondere con "classi" di mutazioni). Il tipo riguarda l'alterazione indotta dalla mutazione nella struttura del DNA che compone il gene CFTR, la classe riguarda l'alterazione molecolare della proteina CFTR (a livello di sintesi, maturazione o funzione). Alcune classi possono includere diversi tipi di mutazioni perché diversi tipi di mutazioni possono portare alla stessa alterazione della funzione di CFTR.

- **Inserzione/Delezione:** un frammento di DNA è aggiunto (inserzione) o rimosso (delezione) dalla sequenza che costituisce il gene, e altera la funzione della proteina. Es: F508del
- **Nonsense (o Stop):** un cambiamento della sequenza del DNA che introduce il segnale per un arresto prematuro della sintesi della proteina Es: G542X, R1162X
- **Missenso:** un cambiamento della sequenza del DNA che porta alla sostituzione di un aminoacido con un altro all'interno della proteina Es: G551D, N1303K
- **Splicing:** un tipo di mutazione che interessa la fase in cui il DNA trascrive l'informazione nel RNA messaggero. Può comportare perdita o aggiunta di materiale genetico (e quindi perdita o aggiunta di aminoacidi) di entità variabile. Es: 3849+10kbC>T
- **Gating:** mutazioni che impediscono l'apertura del canale del coro costituito dalla proteina CFTR ("Gate" alla lettera significa cancello, uscita). Il difetto è dovuto ad un'alterazione del legame della proteina con quelle molecole (nucleotidi) che forniscono l'energia per il corretto funzionamento del canale stesso. Es. N1303K
- **Frameshift:** mutazioni che determinano spostamento della cornice (sfasamento). Alterano il sistema di lettura del codice genetico con cambiamento della sequenza del DNA. Es. 2183AA>G
- **"Riarrangiamento genomico":** mutazioni che comportano alterazioni non di piccoli frammenti del gene, ma di grosse porzioni, che per esempio possono essere cancellate, lasciando in quel tratto il gene privo della sequenza originaria, oppure possono essere cancellate e sostituite da altre porzioni, presenti normalmente in un'altra posizione e ripetute nella nuova.

Media (aritmetica): si ottiene sommando tutti i valori e dividendo la somma finale per il numero di valori

Mediana: in una distribuzione di valori, il valore mediano è quello che distingue il limite sotto al quale si colloca il 50% e sopra il quale l'altro 50% dei valori

Processamento di una proteina: sequenza di vari processi biologici attraverso i quali la proteina, dopo la sintesi, avvenuta parte nel nucleo e parte nel citoplasma, passa dalla forma immatura a quella matura, e migra verso la sede della cellula dove è previsto il suo funzionamento.

pH gastrointestinale: misura dell'acidità dell'ambiente gastrointestinale

RNAm (RNA messaggero): molecola chimica a singola catena paragonabile ad un nastro magnetico su cui vengono trasferite le informazioni contenute nel DNA

Variazione Assoluta (o Incremento Assoluto) e **Variazione Relativa** (o Incremento relativo): la variazione assoluta è la differenza netta tra due valori; quella relativa è la stessa differenza, ma rapportata al valore iniziale. Supponiamo che un paziente passi da 60 a 63 punti percentuali di FEV1: la variazione assoluta in questo caso vale 3 (63-60) mentre quella relativa è 5%: (63-60)/60.

Bibliografia

- Rowe SM, Miller S, Sorscher EJ. Cystic fibrosis. *N Engl J Med.* 2005;352:1992-2001.
- Solomon GM, Marshall SG, Ramsey BW, Rowe SM. Breakthrough therapies: Cystic fibrosis (CF) potentiators and correctors. *Pediatr Pulmonol.* 2015;50 Suppl 40:S3-S13
- Quittner A, Suthoff E, Rendas-Baum R, Bayliss MS, Sermet-Gaudelus I, Castiglione B, Vera-Llonch M. Effect of ivacaftor treatment in patients with cystic fibrosis and the G551D-CFTR mutation: patient-reported outcomes in the STRIVE randomized, controlled trial. *Health Qual Life Outcomes.* 2015;13:93.
- Wainwright CE, Elborn JS, Ramsey BW, Marigowda G, Huang X, Cipolli M, Colombo C, Davies JC, De Boeck K, Flume PA, Konstan MW, McColley SA, McCoy K, McKone EF, Munck A, Ratjen F, Rowe SM, Waltz D, Boyle MP; TRAFFIC Study Group; TRANSPORT Study Group. Lumacaftor-Ivacaftor in Patients with Cystic Fibrosis Homozygous for Phe508del CFTR. *N Engl J Med.* 2015;373:220-31.
- McKone EF, Borowitz D, Drevinek P, Griese M, Konstan MW, Wainwright C, Ratjen F, Sermet-Gaudelus I, Plant B, Munck A, Jiang Y, Gilmartin G, Davies JC; VX08-770-105 (PERSIST) Study Group. Long-term safety and efficacy of ivacaftor in patients with cystic fibrosis who have the Gly551Asp-CFTR mutation: a phase 3, open-label extension study (PERSIST). *Lancet Respir Med.* 2014;2:902-10.
- De Boeck K, Munck A, Walker S, Faro A, Hiatt P, Gilmartin G, Higgins M. Efficacy and safety of ivacaftor in patients with cystic fibrosis and a non-G551D gating mutation. *J Cyst Fibros.* 2014;13:674-80.
- Robertson SM, Luo X, Dubey N, Li C, Chavan AB, Gilmartin GS, Higgins M, Mahnke L. Clinical drug-drug interaction assessment of ivacaftor as a potential inhibitor of cytochrome P450 and P-glycoprotein. *J Clin Pharmacol.* 2015;55:56-62.
- Boyle MP, Bell SC, Konstan MW, McColley SA, Rowe SM, Rietschel E, Huang X, Waltz D, Patel NR, Rodman D; VX09-809-102 study group. A CFTR corrector (lumacaftor) and a CFTR potentiator (ivacaftor) for treatment of patients with cystic fibrosis who have a phe508del CFTR mutation: a phase 2 randomised controlled trial. *Lancet Respir Med.* 2014;2:527-38.
- Accurso FJ, Van Goor F, Zha J, Stone AJ, Dong Q, Ordonez CL, Rowe SM, Clancy JP, Konstan MW, Hoch HE, Heltshe SL, Ramsey BW, Campbell PW, Ashlock MA. Sweat chloride as a biomarker of CFTR activity: proof of concept and ivacaftor clinical trial data. *J Cyst Fibros.* 2014;13:139-47.
- Davies J, Sheridan H, Bell N, Cunningham S, Davis SD, Elborn JS, Milla CE, Starner TD, Weiner DJ, Lee PS, Ratjen F. Assessment of clinical response to ivacaftor with lung clearance index in cystic fibrosis patients with a G551D-CFTR mutation and preserved spirometry: a randomised controlled trial. *Lancet Respir Med.* 2013;1:630-8.
- Bellin MD, Laguna T, Leschyshyn J, Regelman W, Dunitz J, Billings J, Moran A. Insulin secretion improves in cystic fibrosis following ivacaftor correction of CFTR: a small pilot study. *Pediatr Diabetes.* 2013;14:417-21.
- Rowe SM, Liu B, Hill A, Hathorne H, Cohen M, Beamer JR, Accurso FJ, Dong Q, Ordoñez CL, Stone AJ, Olson ER, Clancy JP; VX06-770-101 Study Group. Optimizing nasal potential difference analysis for CFTR modulator development: assessment of ivacaftor in CF subjects with the G551D-CFTR mutation. *PLoS One.* 2013 Jul 26;8(7):e66955.
- Davies JC, Wainwright CE, Canny GJ, Chilvers MA, Howenstine MS, Munck A, Mainz JG, Rodriguez S, Li H, Yen K, Ordoñez CL, Ahrens R; VX08-770-103 (ENVISION) Study Group. Efficacy and safety of ivacaftor in patients aged 6 to 11 years with cystic fibrosis with a G551D mutation. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013 ;187:1219-25.
- Flume PA, Liou TG, Borowitz DS, Li H, Yen K, Ordoñez CL, Geller DE; VX08-770-104 Study Group. Ivacaftor in subjects with cystic fibrosis who are homozygous for the F508del-CFTR mutation. *Chest.* 2012;142:718-24.
- Ramsey BW, Davies J, McElvaney NG, Tullis E, Bell SC, Dřevinek P, Griese M, McKone EF, Wainwright CE, Konstan MW, Moss R, Ratjen F, Sermet-Gaudelus I, Rowe SM, Dong Q, Rodriguez S, Yen K, - Ordoñez C, Elborn JS; VX08-770-102 Study Group. A CFTR potentiator in patients with cystic fibrosis and the G551D mutation. *N Engl J Med.* 2011;365:1663-72.
- Accurso FJ, Rowe SM, Clancy JP, Boyle MP, Dunitz JM, Durie PR, Sagel SD, Hornick DB, Konstan MW, Donaldson SH, Moss RB, Pilewski JM, Rubenstein RC, Uler AZ, Aitken ML, Freedman SD, Rose LM, Mayer-Hamblett N, Dong Q, Zha J, Stone AJ, Olson ER, Ordoñez CL, Campbell PW, Ashlock MA, Ramsey BW. Effect of VX-770 in persons with cystic fibrosis and the G551D-CFTR mutation. *N Engl J Med.* 2010;363:1991-2003.
- Kerem E, Konstan MW, De Boeck K, Accurso FJ, Sermet-Gaudelus I, Wilschanski M, Elborn JS, Melotti P, Bronsveld I, Fajac I, Malfroot A, Rosenbluth DB, Walker PA, McColley SA, Knoop C, Quattrucci S, Rietschel E, Zeitlin PL, Barth J, Elfring GL, Welch EM, Branstrom A, Spiegel RJ, Peltz SW, Ajayi T, Rowe SM; Cystic Fibrosis Ataluren Study Group. Ataluren for the treatment of nonsense-mutation cystic fibrosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet Respir Med.* 2014;2:539-47.
- Wilschanski M, Miller LL, Shoseyov D, Blau H, Rivlin J, Aviram M, Cohen M, Armoni S, Yaakov Y, Pugatsch T, Cohen-Cymbereknoh M, Miller NL, Reha A, Northcutt VJ, Hirawat S, Donnelly K, Elfring GL, Ajayi T, Kerem E. Chronic ataluren (PTC124) treatment of nonsense mutation cystic fibrosis. *Eur Respir J.* 2011;38:59-69.
- Sermet-Gaudelus I, Boeck KD, Casimir GJ, Vermeulen F, Leal T, Mogenet A, Roussel D, Fritsch J, Hanssens L, Hirawat S, Miller NL, Constantine S, Reha A, Ajayi T, Elfring GL, Miller LL. Ataluren (PTC124) induces cystic fibrosis transmembrane conductance regulator protein expression and activity in children with nonsense mutation cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2010 ;182:1262-72.



Le terapie tradizionali: stato dell'arte e ruolo nel cambiamento della vita dei malati

Laura Minicucci

(Centro Regionale Fibrosi Cistica,
IRCCS Istituto Giannina Gaslini, Genova)

“Una storia di successi”, così è definita da un editoriale, pubblicato nel 2011 su prestigiosa rivista scientifica, il continuo miglioramento delle cure rivolte ai pazienti con fibrosi cistica, che hanno visto progredire, nel corso degli ultimi decenni, la durata e la qualità della loro vita.

La storia della Fibrosi Cistica ha portato miglioramenti così rilevanti nella sua evoluzione che spesso solo i curanti e i ricercatori direttamente coinvolti che se ne occupano in prima persona ne sono a conoscenza. Gli altri, professionisti anche seri ma che hanno studiato l'argomento anni fa o su siti web non controllati, forniscono una versione distorta e scorretta della malattia, proprio perché ancorati a situazioni che non sono più quelle reali. D'altro canto le persone con la malattia e le loro famiglie vivono comunque il forte peso delle cure e hanno comprensibili difficoltà ad intravedere nella personale routine quotidiana il complesso dell'evoluzione.

La malattia è cambiata

Ma nel corso dei quasi ottant'anni passati dal momento della definizione della malattia, si può dire che quasi tutto è cambiato. L'aspettativa mediana di vita era allora di pochi mesi o pochi anni, per diventare intorno a 28 anni nel '90, salire nel 2014 intorno ai 40 (Registro USA) (Fig. 1) e fino ai 50 anni (secondo il Registro canadese). Questo ha fortemente modificato le caratteristiche epidemiologiche della popolazione costituita dai malati: un tempo la Fibrosi Cistica era considerata unicamente affezione dell'età pediatrica, mentre, attualmente, gli adulti sono largamente rappresentati (Fig. 2). Di fatto, in una proiezione futura illustrata nell'ultima Conferenza Europea a Bruxelles, Stuart Elborn ha fatto riferimento, per l'anno 2025 in alcuni Paesi Europei campione (Belgio, Repubblica Ceca, Danimarca, Francia, Regno Unito e Olanda), il numero atteso totale di pazienti è pari a 27.000 soggetti: di questi 11.000 saranno bambini e 16.000 saranno adulti (Fig. 2).

MEDIANA DELL' ATTESA DI VITA DAL 1986 AL 2014
REGISTRO CYSTIC FIBROSIS FOUNDATION - REPORT 2014

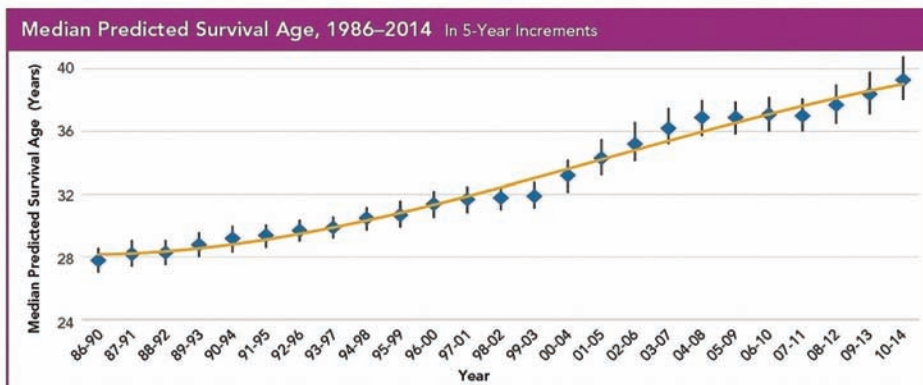


Fig. 1 - La mediana dell'attesa di vita è un'elaborazione statistica basata sulla costruzione delle curve di sopravvivenza e rappresenta l'età alla quale ci si aspetta che sia in vita la metà della popolazione considerata. In quest'immagine la mediana è stata calcolata per intervalli di cinque anni ciascuno (alla fine di ciascun anno solare vengono valutati tutti i pazienti del quinquennio, inclusi quelli che erano stati considerati nel quinquennio all'anno solare precedente). Si può vedere come ci sia stato un costante incremento dal 1986 al 2014. Nell'intervallo 86-90 era intorno a 28 anni, nel 2010-2014 si avvicina a 40 anni.

PROPORZIONE DI SOGGETTI CON ETA' MINORE O MAGGIORE DI 18 ANNI
VIVENTI IN EUROPA AL 31/12/2013

REGISTRO EUROPEAN CYSTIC FIBROSIS SOCIETY - REPORT 2013

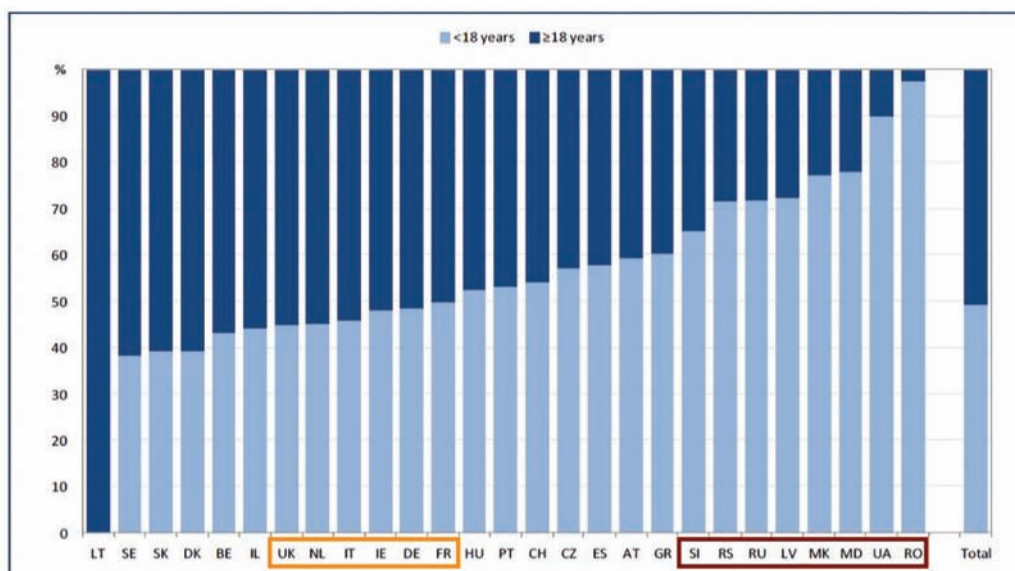


Fig. 2 - Il grafico (tratto dal report 2013 del Registro FC europeo) mostra la percentuale di soggetti che hanno età minore o maggiore di 18 anni (rispettivamente in celeste chiaro e blu scuro), viventi nel 2013 e in cura presso i centri di varie nazioni d'Europa. La percentuale di soggetti sopra i 18 anni varia considerevolmente, anche perché le informazioni fornite al Registro sono disomogenee e non includono sempre tutti i centri delle singole nazioni. La barra iniziale a sinistra del grafico è indicativa del fatto che da quel paese (Lituania) sono state fornite evidentemente informazioni solo su soggetti adulti, mentre l'ultima barra a destra (Romania) sembra indicare che siano state fornite informazioni prevalentemente da centri pediatrici. Nonostante queste limitazioni, si può comunque vedere come mediamente (barra finale staccata a destra) nel 2013 le due popolazioni, bambini/adolescenti e adulti, si equivalgano. Nei centri dell'Est Europa (riquadro rosso in basso sulla destra della figura) la popolazione è ancora prevalentemente di età inferiore ai 18 anni, diversamente dai centri dell'Europa Ovest (riquadro giallo in basso a sinistra).

Come dimostrano i dati del registro Europeo 2013, il miglioramento delle prospettive future riguarda tutti i soggetti affetti, ma soprattutto le nuove generazioni, che stanno meglio, a parità di anni di età, rispetto alle generazioni precedenti. Riguarda anche quei pazienti affetti da una forma grave di malattia, il cui futuro, qualche anno or sono, era atteso come irrimediabilmente compromesso nell'arco di tempi brevi. Riguarda anche le prospettive di sopravvivenza dopo il trapianto polmonare, come dimostrato nel Registro Italiano dei trapianti d'organo. Il trapianto polmonare FC è in continua progressione nei risultati a breve e a lungo termine e si spera che possa ottenere ulteriore beneficio dallo straordinario incremento di disponibilità alla donazione registrato in Italia nel 2015.

Inoltre, dato ancora più rilevante, i malati di Fibrosi Cistica riescono oggi, nella grande maggioranza dei casi, ad avere discreta qualità di vita, certamente migliore rispetto a quella di un recente passato, perché hanno una soddisfacente funzionalità respiratoria e un accettabile stato nutrizionale; studiano, lavorano, in buon numero gli adulti si rendono autonomi dalla famiglia, hanno relazioni affettive stabili, talora hanno figli (Fig. 3).

*Soprattutto
le nuove generazioni
stanno meglio*

ANDAMENTO DEL NUMERO DELLE GRAVIDANZE PER ANNO NELLE DONNE CON FC

REGISTRO CYSTIC FIBROSIS FOUNDATION - REPORT 2014



Fig. 3 - Il Registro USA fornisce il numero di gravidanze nelle donne con FC anno per anno dal 1990 al 2014. È riportato il numero di gravidanze segnalate negli anni 1994, 2004, 2014, per indicare l'andamento in crescita. Nel 2014 il tasso di gravidanza (numero di gravidanze per cento donne in età fertile) risulta del 4%.

Al giorno d'oggi, esistono protocolli validati a livello internazionale e continuamente aggiornati che assicurano la cura migliore e più sicura a tutti i pazienti affetti. Le ultime linee guida pubblicate dalla Società Europea Fibrosi Cistica nel 2014, oltre alle modalità e ai tempi per lo screening neonatale, la diagnosi e il follow up del paziente, definiscono i seguenti punti come cardini del protocollo terapeutico:

Un cambiamento graduale

- La terapia rivolta contro l'infezione polmonare da *Ps. aeruginosa*, intesa sia come tentativo di eradicazione della sua prima comparsa in coltura di espettorato sia come terapia dell'infezione cronica, soprattutto con l'utilizzo continuativo di antibiotici per via aerosolica. Di qui il netto miglioramento dei livelli di funzionalità respiratoria.
- La fisioterapia respiratoria e il corretto esercizio fisico.
- Il trattamento precoce delle riacutizzazioni infettive polmonari.
- La somministrazione per via aerosolica di mucolitici, come il Pulmozyme, e di farmaci che migliorano l'idratazione delle vie respiratorie, come la soluzione salina ipertonica.
- La somministrazione continuativa di azitromicina, come farmaco antinfiammatorio
- Il mantenimento di uno stato nutrizionale ottimale grazie ad un corretto regime dietetico, ad una adeguata somministrazione di enzimi pancreatici e al ricorso, quando necessario, all'alimentazione enterale.
- Il corretto e tempestivo trattamento delle complicanze polmonari (emottisi, pneumotorace), delle complicanze epatobiliari, delle complicanze gastrointestinali (reflusso gastroesofageo, pancreatite, ostruzione intestinali) della inappropriata secrezione insulinica da parte del pancreas, della insufficiente calcificazione delle ossa, delle complicanze a carico del rene, dei seni paranasali e delle articolazioni.
- L'approccio corretto alla maternità e alla paternità delle persone affette.
- L'approccio corretto al trapianto polmonare, sia nel periodo di iscrizione in lista d'attesa che nel periodo post-trapianto.
- L'approccio corretto ai problemi psicologici del paziente e della sua famiglia.

Le tappe della ricerca clinica

Questo complesso e articolato programma è il frutto di anni in cui è stata attiva soprattutto la ricerca clinica. Agli studi clinici, al diretto coinvolgimento dei malati nella sperimentazione di nuove conoscenze si devono le tappe fondamentali dei progressi fatti decennio per decennio, così come suggerito da James Littlewood nel suo editoriale intitolato *"The History of Cystic Fibrosis"* pubblicato nel 2014. Ogni tappa si fonda su di uno studio clinico che ha segnato un passaggio chiave e ha fatto introdurre nelle strategie terapeutiche un farmaco, un protocollo, una indagine che prima non c'era.

I pionieri della scoperta della malattia

Anni trenta: Dorothy Andersen nel 1938 descrive per la prima volta la malattia (*Cystic Fibrosis of the pancreas*), identificando soprattutto i sintomi riferibili al pancreas e al grave deficit nutrizionale conseguente all'insufficienza pancreaticata.

Anni Quaranta: È riconosciuto il carattere ereditario dell'affezione. Viene intuito che la malattia crea problemi generalizzati in tutto l'organismo e che sono soprattutto i problemi associati al polmone che definiscono la gravità del quadro clinico, caratterizzato dalle frequenti infezioni polmonari, che cominciano ad essere trattate dai primi antibiotici disponibili: penicillina, aureomicina, tetraciclina, cloramfenicolo. Paul di Sant'Agnesse individua, nell'estate torrida del 1952 a New York, l'abnorme concentrazione di sale nel sudore dei bambini affetti. Su questa base viene messa a punto l'indagine diagnostica ancor oggi indispensabile per formulare la diagnosi: il test del sudore.

L'inizio di un approccio diverso: drenaggio e fluidificazione delle secrezioni bronchiali

Anni Cinquanta/Sessanta: Viene utilizzata, in Inghilterra, una prima tecnica fisioterapia respiratoria, detta di "drenaggio posturale", al fine di ovviare

al ristagno delle secrezioni bronchiali, particolarmente dense e vischiose nei pazienti FC. Questa ed altre tecniche si difondono altrove ed anche in Italia.

Anni Settanta: A Toronto (Canada) viene introdotto un regime dietetico ipercalorico e iperlipidico. La nuova dieta migliora in modo significativo lo stato nutrizionale e l'accrescimento dei pazienti, ai quali fino ad allora era stata prescritta una dieta povera di grassi, dal momento che gli enzimi pancreatici disponibili in commercio limitavano scarsamente la loro perdita con le feci. A Copenhagen viene chiarito il ruolo della infezione da *Ps. aeruginosa* nel peggiorare l'evoluzione della broncopneumopatia FC e vengono impostati i primi protocolli di terapia antibiotica volti a limitare gli effetti negativi del germe.

Cambia l'alimentazione

Anni ottanta: Sono questi, anni determinanti nella storia della terapia della fibrosi cistica. Prima di tutto, viene fatta chiarezza sul difetto di base della malattia: un gene alterato, il gene CFTR, che porta alla sintesi di una proteina anomala nella membrana delle cellule epiteliali di tutto l'organismo: la proteina CFTR. Si apre quindi la strada a terapie non più indirizzate a controllare i sintomi della malattia (terapie sintomatiche), bensì volte a evitare la comparsa dei sintomi stessi. Iniziano gli studi sulla terapia farmacologica della proteina alterata e sulla terapia genica per modificare il corredo genico cellulare che porta alla sintesi della proteina anomala.

Nel 1989 la scoperta del gene CFTR

In questi anni (Fig. 4,5) inoltre, vengono perfezionati i protocolli antibiotici per combattere l'infezione da *Ps. aeruginosa* e inizia la somministrazione degli antibiotici per aerosol. Verso la fine del decennio vengono effettuati, in Inghilterra, i primi trapianti in FC di cuore-polmone: essi si dimostrano arma efficace nella terapia degli stadi più gravi della malattia polmonare. Sono disponibili nuovi enzimi pancreatici che, essendo gastroresistenti, migliorano ulteriormente le possibilità digestive dei pazienti (Fig 6) e viene introdotto in terapia l'acido ursodesossicolico nella prevenzione e nella cura delle complicanze a carico di fegato e colecisti.

L'attacco quotidiano ai microbi e all'infezione respiratoria

VALORE MEDIANO DI FEV₁ PER CLASSI DI ETÀ DAL 1986 AL 2014
REGISTRO CYSTIC FIBROSIS FOUNDATION - REPORT 2014

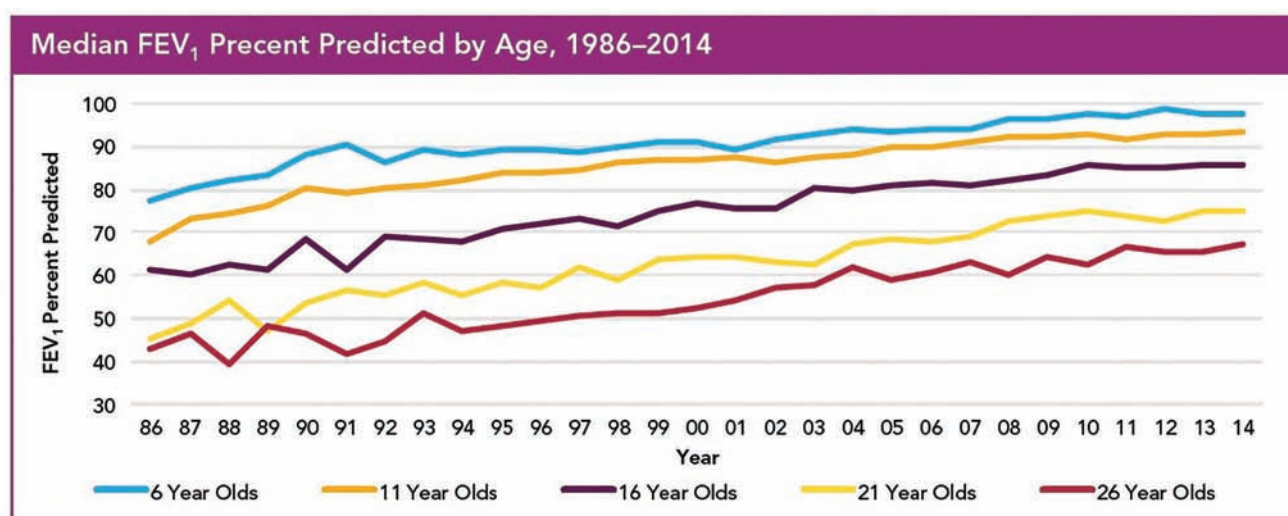


Fig. 4 - Sempre dal Registro USA, dal 1986 al 2014 il valore mediano di FEV₁ è migliorato di più di 10 punti percentuali per qualsiasi età. Le classi di età qui considerate includono i soggetti di 6, 11, 16, 21 e 26 anni. Si può vedere come nel 2014 il valore mediano di FEV₁ per i soggetti di 16 anni (linea viola) è intorno all'80% del valore predetto (indicante funzionalità respiratoria normale o solo lievemente compromessa)

DISTRIBUZIONE DEL VALORE MEDIANO DI FEV1 NEI SOGGETTI DI 18 ANNI

REGISTRO CYSTIC FIBROSIS FOUNDATION - REPORT 2014

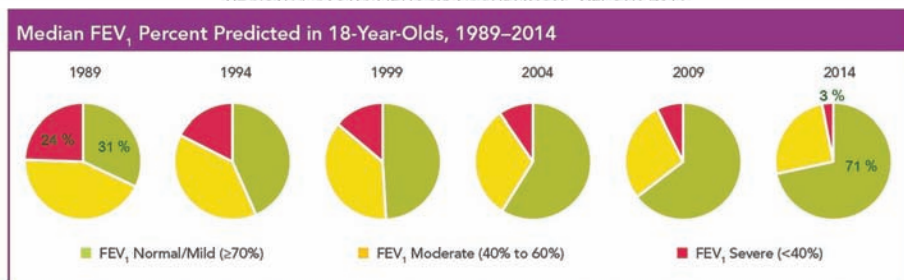


Fig. 5 - Nel Registro USA, la percentuale di soggetti di 18 anni che hanno FEV₁ normale o solo lievemente compromessa (uguale o maggiore del 70%) era del 30% nel 1989 e cresce al 71% nel 2014. La percentuale di soggetti di 18 anni con FEV₁ seriamente compromessa (uguale o minore del 40% rispetto al predetto) diminuisce dal 24% del 1989 al 3% del 2014.

VALORE MEDIANO DEL PERCENTILE DI BMI PER CLASSI DI ETÀ DAL 1986 AL 2014

REGISTRO CYSTIC FIBROSIS FOUNDATION - REPORT 2014

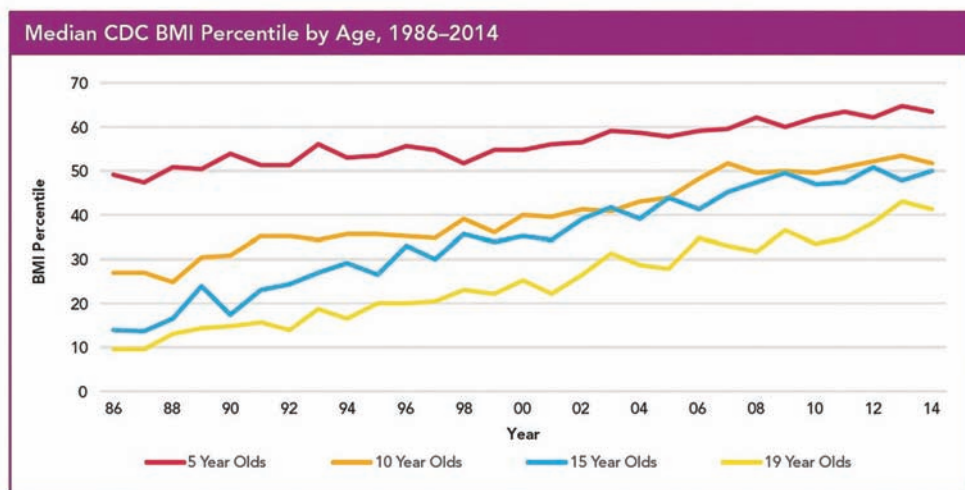


Fig. 6 - Il BMI (Body Mass Index, misura di massa corporea) è un indice dello stato nutrizionale, basato sul rapporto tra peso ed altezza. Obiettivo delle cure è il raggiungimento del 50° percentile (mediana della popolazione non FC) di BMI a tutte le età. Nel corso del tempo il BMI è costantemente cresciuto in tutte le età e particolarmente nei soggetti adolescenti (la linea azzurra indica i soggetti di 15 anni di età)

Migliora il trattamento delle complicanze

Anni novanta: Nel decennio prosegue la ricerca sulla terapia genetica e sulla terapia farmacologica della proteina anomala CFTR, che si conferma essere un regolatore dell'escrezione dello ione Cloro (e bicarbonato) all'esterno delle cellule. La ricerca si arricchisce di ulteriori possibilità grazie all'utilizzo di modelli animali che presentano lo stesso tipo di difetto di base dei pazienti affetti. Risultano efficaci e trovano posto nei protocolli terapeutici un nuovo mucolitico (DNAse), un antibiotico somministrato in modo intermittente per aerosol (tobramicina) e un antibiotico per via orale usato continuamente soprattutto per il suo effetto antinfiammatorio (azitromicina). Risulta efficace e quindi raccomandato il tentativo di eradicare dalle vie aeree *Ps. aeruginosa* alla prima cultura di escreato positiva, anche nei pazienti asintomatici. Il significato e la reale portata di questa "eradicazione" sono tema aperto di studio. Vengono cercate, diagnosticate e trattate le complicanze extrapolmonari della malattia, quelle che possono sopraggiungere con l'età ma hanno un peso clinico e un decorso diverso se precocemente riconosciute e affrontate. Tipico il diabete, che vede lo sviluppo di forme di insulina più efficaci e di nuovi dispositivi più maneggevoli per la somministrazione.

Questa revisione ha focalizzato tutto il corredo terapeutico che nel corso degli anni è venuto ad arricchire il nostro bagaglio di armi contro l'evoluzione negativa della malattia, ma al di là delle terapie innovative, per spiegare l'enorme progresso raggiunto altri fattori si sono dimostrati determinanti altri fondamentali fattori, che accenniamo di seguito.

Il primi anni del nuovo millennio: La soluzione salina ipertonica somministrata per via aerosolica dimostra la sua efficacia nel ridurre il numero delle riacutizzazioni polmonari e nel migliorare la funzionalità respiratoria. Soprattutto però, in questi anni, si dimostra realizzabile la terapia farmacologica della CFTR mutata. Per ora è limitata al 5% dei pazienti FC, portatori di specifiche mutazioni (con difetto di "gating"). La ricerca di modulatori della proteina presente nei pazienti portatori di altre mutazioni è attiva e sta dando i primi risultati.

Questa revisione ha focalizzato tutto il corredo terapeutico che nel corso degli anni è venuto ad arricchire il nostro bagaglio di armi contro l'evoluzione negativa della malattia, ma al di là delle

Diagnosi e cure presso centri specializzati

terapie innovative, per spiegare l'enorme progresso raggiunto altri fattori si sono dimostrati determinanti altri fondamentali fattori, che accenniamo di seguito.

Non solo farmaci

La nascita dei **Centri Specializzati** per la diagnosi e la cura della malattia: il primo Centro dedicato è stato realizzato a Cleveland nel 1957, seguito rapidamente da altri Centri diffusi in tutti gli Stati Uniti, Europa e Australia. In Italia il primo centro sorge a Verona nel 1967. Nel 1993, sempre in Italia, la Legge Nazionale 548 ha provveduto a istituire e finanziare un Centro FC per ogni Regione, assicurando inoltre la gratuità completa di tutti i farmaci e presidi terapeutici necessari, contribuendo così in modo determinante al miglioramento delle cure nel nostro Paese.

Nel 1973 partì nel Veneto il primo programma di **screening neonatale** (test dell'abumina su meconio), esteso poi anche altrove, a partire dai primi anni '80, con la determinazione su goccia di sangue secco della trispina immunoreattiva (test IRT). Si aprì così la strada per la presa in carico del paziente fin dai primi mesi di vita e per la messa in atto di tutte le misure necessarie a prevenire il peggioramento del quadro clinico.

Negli anni '60 cominciarono a sorgere le **Associazioni di pazienti e famiglie**: ricordiamo tra le prime la *Cystic Fibrosis Foundation* negli Usa, il *Cystic Fibrosis Trust* nel Regno Unito e, in Italia, l'Associazione Italiana (più tardi Lega Italiana) Fibrosi Cistica. Queste associazioni, che riuniscono pazienti con le loro famiglie e i curanti, hanno aiutato in modo rilevante il progresso nella cura e nell'assistenza dei malati, fornendo anche il supporto organizzativo allo sviluppo e all'accreditamento dei Centri FC. In alcuni paesi hanno anche sostenuto fortemente l'impulso alla ricerca, così come avvenuto in Italia con il ruolo svolto dalla Fondazione per la Ricerca in Fibrosi Cistica.

Frutto diretto del lavoro di queste organizzazioni sono i **Registri di patologia**, che hanno permesso di arricchire sui grandi numeri le conoscenze sulla malattia e le **Reti di ricerca Internazionali**: la TDN (*Therapeutic Development Network*), negli USA e il CTN (*Clinical Trial Network*) in Europa, che hanno permesso di coordinare le ricerche sui nuovi farmaci testandone sicurezza e efficacia su grandi numeri di pazienti.

*Registri-malattia
e reti di ricerca*

La continua **ricerca tecnologica** ha permesso l'ampliarsi delle tecniche e degli strumenti per la fisioterapia respiratoria, rendendola sempre più agevole e sempre più adattabile alle esigenze e alle preferenze del singolo paziente. L'aerosolterapia è diventata sempre più veloce e quindi meglio accettata dai pazienti e sempre più efficace, perché ha permesso una migliore deposizione del farmaco a livello polmonare. Nel campo tecnologico, un ruolo di primo piano è senza dubbio da attribuire al dispositivo che ha permesso di realizzare la Ventilazione Non Invasiva (NIV) nei pazienti in insufficienza respiratoria. Di fatto, la NIV ha permesso a molti pazienti in condizioni critiche di guadagnare mesi preziosi in lista d'attesa per trapianto polmonare, proponendosi come un vero e proprio "bridge"(ponte) al trapianto stesso.

L'affinamento di regole precise derivate da una branca della medicina chiamata **Medicina basata sulle Evidenze** ha consentito di impostare e ricavare risultati dagli "studi clinici", realizzati per indagare in modo corretto vantaggi e svantaggi di ogni nuovo presidio o terapia o protocollo e definire i principi su cui basare le linee guida internazionali, al fine di applicare protocolli diagnostici e terapeutici sicuri, efficaci e condivisi da tutta la comunità scientifica internazionale.

In conclusione, anche se le nostre speranze per il futuro poggiano soprattutto sulle terapie farmacologiche per la correzione della CFTR e su quelle di intervento sul gene, le terapie "sintomatiche" hanno un ruolo ancora decisivo. Studi clinici controllati su nuovi antibiotici, nuovi antinfiammatori, nuovi farmaci per il trapianto polmonare e nuovi presidi tecnologici, permetteranno di portare tutti i pazienti nelle condizioni migliori per usufruire delle nuove o future terapie rivolte al difetto di base. Del resto, merita osservare che gli studi clinici effettuati sinora per trattare sintomi e complicanze hanno mostrato indici di miglioramento (almeno per quanto riguarda FEV1) in alcuni casi non dissimili o addirittura superiori a quelli ottenuti più recentemente (ad eccezione del potenziatore ivacaftor per le mutazioni di gating) con i farmaci mirati al difetto di base (Fig. 7).

INCREMENTO DI FEV1 PER EFFETTO DI TERAPIE TRADIZIONALI E NUOVI FARMACI

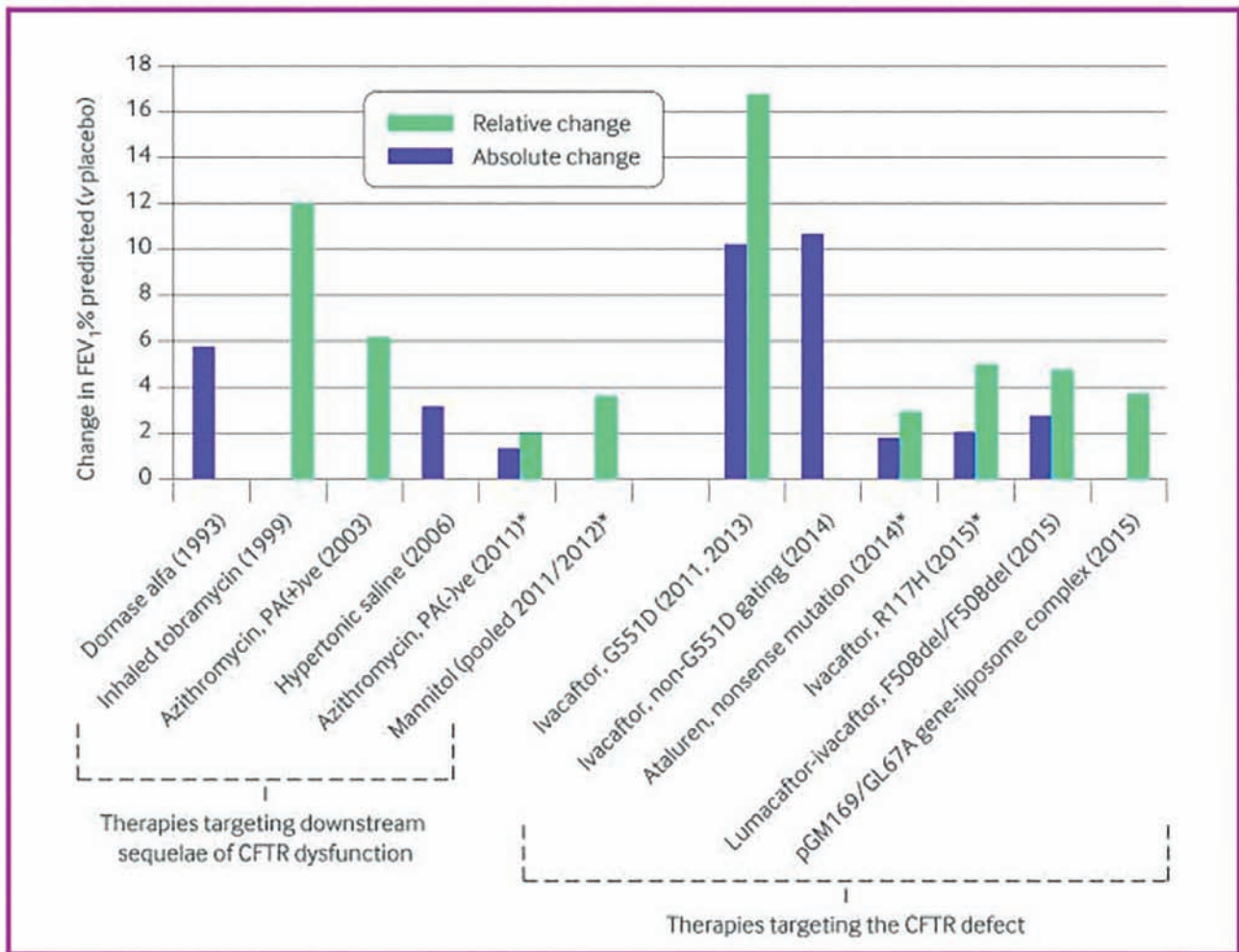


Fig. 7 - La figura mostra l'effetto sul FEV1 (valori medi) delle terapie tradizionali dirette ai sintomi e alle complicanze FC (parte sinistra) rispetto ai nuovi farmaci, mirati al difetto di base (parte destra). I dati sono ricavati dai trial clinici pubblicati. Il paragone ha dei limiti, dovuti al fatto che i dati non sono direttamente comparabili per le differenze all'interno della popolazione studiata e per il cambiamento nel tempo delle terapie correnti. Pur tenendo conto di questi limiti, è interessante il paragone tra l'effetto su FEV1 di Dornase alfa (DNAse = Pulmozyme) e Lumacaftor-ivacaftor (Orkambi), ma anche quello tra tobramicina aerosol e combinazione orkambi. Le variazioni assolute di FEV1 (barre blu) sono quelle di maggior significato (le variazioni relative invece sovrastimano l'effetto). Fig. tratta da BMJ 2016; 352: i859

Bibliografia

- Quon BS, et al. "A story of success: continuous quality improvement in cystic fibrosis care in the USA" *Thorax* 2011, 66:1106-1108
- Stephenson AL. "A contemporary survival analysis of individuals with cystic fibrosis: a cohort study" *Eur Respir J*. 2015 Mar;45(3):670-9.
- ECFS Patient Registry Annual Data Report. 2013
- Cystic Fibrosis Foundation, National CF patient Registry, 2009
- Buzzetti R "Validation of a predictive survival model in Italian patients with cystic fibrosis". *J Cyst Fibros*. 2012 Jan;11(1):24-9
- Cystic Fibrosis Foundation, National CF patient Registry, 2013
- Smyth AR "ECFS Standard of Care: Best Practice guidelines" *J Cyst Fibros*. 2014 (13 Suppl 1): 23-42
- Littlewood BE "A history of Cystic Fibrosi" www.cfmedicine.com/history



Presidente
VITTORIANO FAGANELLI



Direttore Scientifico
GIANNI MASTELLA



Presidente Comitato Scientifico
GIORGIO BERTON

Consiglio di Amministrazione

Presidente Vittorio Faganelli

Vicepresidente Matteo Marzotto

Consiglieri Sandro Caffi, Francesco Cobello,

Paolo Del Debbio, Francesco Ernani,

Giuseppe Ferrari, Gianni Mastella,

Giulio Pedrollo, Michele Romano, Donatella

Treu, Luciano Vettore, Patrizia Volpato

Direzione scientifica

Direttore Gianni Mastella

Vicedirettore Graziella Borgo

Comitato di consulenza scientifica

Presidente Giorgio Berton

Consulenti Paola Bruni, Roberto Buzzetti,

Gian Maria Rossolini

Presidenza e Segreteria

(V. Faganelli, G. Cadoni, F. Lavarini)

Tel. 045 8123438-7037 - Fax 045 8123568

Ospedale Maggiore, Piazzale Stefani 1

37126 Verona

fondazione.ricercafc@ospedaleuniverona.it

gabriella.cadoni@fibrosicisticaricerca.it

federica.lavarini@fibrosicisticaricerca.it

Direzione Scientifica (G. Mastella)

Tel. 045 8123567

gianni.mastella@ospedaleuniverona.it

Vicedirezione Scientifica (G. Borgo)

Tel. 045 8127027

borgograziella@gmail.com

Direzione di Gestione (G. Zanferrari)

Tel. 045 8127028

giuseppe.zanferrari@gmail.com

Amministrazione (G. Cadoni, M. Bergamaschi, M. Giacomuzzi, E. Fabietti)

Tel. 045 8123597 - 7034 - 7025 - 7029

gabriella.cadoni@fibrosicisticaricerca.it

fondazione.ricercafc@ospedaleuniverona.it

fondazione.ricercafc@ospedaleuniverona.it

Comunicazione

(M. Zanolli, R. Perbellini, S. Chignola,

F. Malvezzi)

Tel. 045 8123599 - 7026

comunicazione.ffc@ospedaleuniverona.it

Ufficio stampa (P. Adami)

Tel. 045 581893

patrizia@clabcomunicazione.it

Raccolta Fondi e Rapporti con il Territorio

(G. Zanferrari, F. Cabianca, L. Fratta,

G. Buemi)

Tel. 045 8123605 - 7032 - 7033

giuseppe.zanferrari@gmail.com

fabio.cabianca@fibrosicisticaricerca.it

laura.fratta@fibrosicisticaricerca.it

giusy.buemi@fibrosicisticaricerca.it

fibrosicisticaricerca.it

f **Fondazione per la Ricerca**
sulla Fibrosi Cistica



Certificazione IID 2008/10
Aderiamo agli standard
della Carta della Donazione

Delegazioni della Fondazione

Alessandria - Valle Scrivia	347 3095778
Ancona - Fabriano	347 8638704
Avellino	349 3940749
Bari - Molfetta	349 6384907
Belluno	0437 943360
Bergamo - Trescore Balneario	338 4276716
Bergamo - Villa D'almè	335 8369504
Biella	331 9028525
Bologna	348 1565099
Brescia	030 5233919
Cagliari	329 6241193
Catania Mascalucia	333 1909983
Catania - Paternò	340 7808686
Catanzaro - Soverato	347 5283975
Cecina e Rosignano	340 6113886
Cosenza Nord	349 0519433
Cosenza 2 Sud	347 9041138
Cuneo - Alba	333 6301943
Fermo	339 4758897
Ferrara	347 4468030
Foggia	320 4848190
Genova	348 1634818
Grosseto - Manciano	333 8221877
Imola e Romagna	347 9616369
Latina	328 8042186
Lecce	388 3498587
Livorno	0586 808093
Lodi	347 0969534
Lucca	340 3436289
Mantova	335 7077280
Matera Montescaglioso	329 6016214
Messina	349 7109375
Milano	335 456809
Napoli	338 8099917
Napoli - Pompei	081 679151
Novara	331 7287449
Olbia Tempio	334 6655844
Padova - Monselice	042 974085
Palermo	338 4124077
Parma	0521 386303
Pavia	338 3950152
Pesaro	347 0191092
Pescara	347 0502460
Ragusa - Vittoria Siracusa	338 6325645
Reggio Calabria	0965 787225
Reggio Emilia	0522 874720
Roma	339 7744458
Roma - Monterotondo	349 6500536
Roma - Pomezia	349 1538838
Rovigo	349 1252300
Salerno	320 4229443
Siena	349 3599497
Sondrio - Valchiavenna	338 3133275
Taranto "A Carmen La Gioia"	320 8715264
Teramo	349 6067242
Torino	328 8352087
Trapani - Marsala	333 7240122
Treviso - Montebelluna	335 8413296
Treviso - Trevignano	340 6749202
Trieste	348 4959691
Varese	347 8347126
Varese - Tradate Gallarate	347 2441141
Verbania e V.C.O.	338 2328074
Verona	347 8480516
Verona - Bovolone	348 3395278
Verona - Bussolengo Pescantina	328 2316828
Verona - Cerea "Il Sorriso di Jenny"	339 4312185
Verona - Lago di Garda	348 7632784

Verona - Boschi Sant'Anna Minerbe	328 7140333
Verona - Valdadige	340 6750646
Verona - Valpolicella	339 3316451
Vibo Valentia San Costantino Calabro	388 7767773
Vicenza	333 8877053
Viterbo	339 2107950

Gruppi di sostegno della Fondazione

Alessandria - Acqui Terme	366 1952515
Ancona Falconara	347 3329883
Arezzo	331 3700605
Bari - Altamura	349 0846868
Bari - Bitritto	340 1618950
Barletta	0883 519569
Benevento	347 4722532
Bergamo - Isola Bergamasca	349 5002741
Bologna - Monte S. Pietro	051 6760729
Bolzano - Val Badia	0474 520127
Brindisi - Latiano	347 6350915
Brindisi - Torre	327 2056244
Cagliari - Isili	345 1442597
Cagliari - Villasimius	348 71162291
Campobasso	346 8744118
Como - Dongo	333 7737473
Cremona - Genivolta	347 9345030
Crotone	340 7784226
Ferrara - Comacchio	339 6511817
Firenze - Reggello	328 7043136
Foggia - Manfredonia	347 5012570
Foggia - San Severo	334 9370137
Frosinone	320 7277330
Genova - Cavi di Lavagna	349 3152910
Genova "Mamme per la ricerca"	010 3538371
Gorizia - Grado	328 6523404
Imperia - Ospedaletti	335 5881657
Imperia	333 2163849
La Spezia - Sarzana "Natalina"	349 7665757
Matera - Marconia "Roberto"	338 9573904
Medio Campidano	349 7829841
Messina - Tremestieri	328 5541071
Milano - Brughiero	039 2873024
Milano - Bussero	340 5327647
Milano - Lainate	348 3807009
Milano - Magenta	339 4887552
Milano - Seregno	338 4848262
Modena - Sassuolo	333 5862932
Napoli - Cicciano	335 6551613
Napoli - San Giuseppe Vesuviano	338 7032132
Oristano - Riola Sardo	342 5133252
Padova - Urbana	347 0814872
Perugia - Città di Castello Umbertide	320 9273469
Parma - Fidenza	334 6994359
Pisa	347 4235635
Ravenna - Faenza	0546 44310
Roma - Vaticano	328 2442701
Rovigo - Adria	347 8497842
Sassari - Alghero	329 2096790
Sassari - Castelsardo	338 8437919
Savona - Spotorno	338 8775863
Siracusa - Melilli	333 2005089
Taranto - Massafra	329 2025039
Torino - Chivasso	011 9172055
Torino - Ivrea	335 7716637
Torino - Rivarolo Canavese	347 9672344
Trento - Ass.ne Trentina Fibrosi Cistica	340 5228888
Varese - Samarate "Terremoto Team"	345 2287044
Venezia	349 8707627
Verona "Rita"	347 6064471
Verona - Val d'Alpone	328 9688473

PER DONARE

- c/c postale n. 18841379
- Bonifico Unicredit Banca (senza commissione presso questi sportelli): IT 47 A 02008 11718 000102065518
- SWIFT-BIC code (per pagamenti dall'estero) UNCRITM1N58
- Bonifico Banco Popolare di Verona: IT 92 H 05034 11708 000000048829
- On-line sul sito: www.fibrosicisticaricerca.it
- 5x1000 alla FFC n. 93100600233



Fondazione Ricerca
Fibrosi Cistica - Onlus
italian cystic fibrosis research foundation

www.fibrosicisticaricerca.it