15 anni per la ricerca 1997 - 2012

fondazione per la ricerca sulla fibrosi cistica - onlus
Italian Cystic Fibrosis Research Foundation

X SEMINARIO DI PRIMAVERA

Progressi recenti e sviluppi futuri della ricerca in fibrosi cistica

Trapianto polmonare FC oggi

Noi e la Genetica

Farmacoterapia del difetto di base FC

Verona, 19 maggio 2012

Con il patrocinio di

Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata Verona

SIFC SOCIETA ITALIANA FIBROSI CISTICA

LEGA ITALIANA FIBROSI CISTICA - ONLUS

e l'ospitalità di

BANCA POPOLARE DI VERONA
GRUPPO BANCO POPOLARE

Redazione: Gianni Mastella, Graziella Borgo, Tecla Zarantonello
In copertina, acquerello di Saba Ferrari "Semina di sogni" 2012
Grafica e impaginazione: Ada Frapporti
Stampato nel maggio 2012 da Tipografia Artigiana - San Giovanni Lupatoto (VR)

fondazione per la ricerca
sulla fibrosi cistica - onlus
Italian Cystic Fibrosis Research Foundation

X SEMINARIO DI PRIMAVERA

Nel 15° anniversario della nascita della Fondazione Ricerca FC

Progressi recenti e sviluppi futuri della ricerca in fibrosi cistica

Novità in tema di trapianto polmonare FC

•

Noi e la Genetica

•

Progressi nella farmacoterapia del difetto di base in fibrosi cistica

Verona, 19 Maggio 2012

Sala Convegni della Banca Popolare di Verona

SOMMARIO

Presentazione (Graziella Borgo) 3

Novità in tema di trapianto polmonare FC (Mirella Collura, Alessandro Bertani) 5

Noi e la Genetica (Giuseppe Castaldo) 8

Progressi nella farmacoterapia del difetto di base in fibrosi cistica (Luis JV Galietta) 11

Appendice 13

Nuove strategie di ricerca FFC in Italia (Gianni Mastella)

Graziella Borgo
Vicedirettore Scientico
Fondazione Ricerca Fibrosi Cistica

PRESENTAZIONE

Il Seminario di Primavera di quest'anno è dedicato a tre temi che sono di attualità per diverse ragioni.

Il tema del ***trapianto polmonare*** *è stato scelto perché le informazioni su scala nazionale (numerosità, tempi di attesa, tasso di successo) sono ferme al 2007: nel frattempo le esperienze sono cresciute, le tecniche migliorate, ma non conosciamo quale sia la situazione complessiva della realtà italiana. Invece è fondamentale, perché malati e medici possano prendere decisioni con maggior consapevolezza, avere notizie aggiornate e accurate. C'è anche una particolare novità di cui essere informati: il disegno di legge, approvato dalla Commissione Affari Sociali della Camera e in attesa dell'esame del Senato, che stabilisce la possibilità della donazione di un lobo polmonare da parte di un soggetto vivente. Questa possibilità apre scenari e problemi molto particolari. Poiché nell'ambito della Società Italiana Fibrosi Cistica è attiva una Commissione Trapianti, abbiamo chiesto alla sua coordinatrice, la dottoressa Mirella Collura (responsabile del Centro Regionale FC di Palermo) di attivare tutti i mezzi possibili per avere dati generali aggiornati e venire a presentarli. Sarà con lei e parlerà specificamente del trapianto da vivente il dott. Alessandro Bertani del Centro Trapianti ISMETT di Palermo.*

Il secondo tema riguarda ***la relazione esistente fra le mutazioni del gene CFTR presenti nel corredo genetico del malato e i sintomi e l'andamento della sua malattia****. Le frequentissime domande che arrivano al sito della Fondazione (www.fibrosicistica.it) su quest'argomento fanno capire che le mutazioni CFTR sono viste come la chiave magica per prevedere il futuro e determinare in maniera inappellabile l'andamento della malattia. Abbiamo chiesto di parlarci della questione ad un esperto genetista napoletano, il prof Giuseppe Castaldo, attuale presidente della SIBioC (Società Italiana di Biologia Molecolare Clinica), che ha notevole esperienza con la divulgazione di questi temi fra studenti. In particolare, gli abbiamo chiesto di introdurre il tema fornendo le nozioni base della genetica, per poi passare a illustrare i concetti di mutazioni CFTR "lievi" e "severe"; e infine far conoscere studi e ricerche che in questi anni hanno fatto capire come siano importanti nell'evoluzione della malattia altri fattori, diversi dalle mutazioni del gene CFTR. Da queste informazioni possono derivare elementi utili per avere maggior fiducia nella risorse individuali complessive (è vero anche in questa malattia che ognuno scrive la "propria" storia) e nei progressi della scienza e delle cure.*

La terza relazione vuole mettere in evidenza come la conoscenza delle mutazioni genetiche stia diventando importante per un altro obiettivo: ***personalizzare il trattamento terapeutico****, che in futuro metterà a disposizione del malato farmaci diversi, per "curare" gli effetti delle diverse mutazioni genetiche che stanno alla base della malattia. Per questo, al dott. Luigi Galietta, del Laboratorio di Genetica Molecolare dell'Istituto Gaslini di Genova, abbiamo chiesto un aggiornamento su quanto è successo di nuovo nel corso dell'anno in questo campo. La notizia che ha avuto maggior rilievo è l'efficacia del potenziatore VX-770 ora disponibile con il nome*

di Kalydeco) nei confronti della mutazione G551D, efficacia dimostrata con la sperimentazione diretta nei malati FC che avevano questa mutazione nel genotipo. La G551D è mutazione molto rara in Italia e presente solo in circa il 4% dei malati americani. Ma è chiaro il significato del messaggio più generale che viene da questa scoperta: quello che è dimostrato possibile per questa mutazione potrebbe esserlo anche per altre! E quindi, nuovo fiato e speranze aperte per gli studi di potenziatori e correttori e nuove molecole che agiscono su mutazioni molto più frequenti di G551D.

Come l'anno scorso, la relazione dell'esperto sarà seguita dalla possibilità di fare domande e discutere gli aspetti poco chiari (abbiamo chiesto ai relatori il massimo dello sforzo per la semplicità di linguaggio!). Il tutto sarà videoregistrato e accessibile sul sito della Fondazione (www.fibrosicisticaricerca.it) pochi giorni dopo. Con la videoregistrazione, che viene realizzata per sensibilizzare e per diffondere in chiave divulgativa i contenuti medico-scientifici trattati, la Fondazione intende in particolare mettere a disposizione l'iniziativa del Seminario di Primavera prima di tutto a familiari e persone con malattia FC, che per varie ragioni non possono parteciparvi direttamente. Ma si augura sia vista e apprezzata anche dai volontari e sostenitori della Fondazione, come pure da medici, infermieri e tutti i professionisti che operano nel campo di questa malattia.

NOVITÀ IN TEMA DI TRAPIANTO POLMONARE FC

Mirella Collura
Centro Fibrosi Cistica, Ospedale dei Bambini "G.Di Cristina", Palermo

Alessandro Bertani
Centro Trapianti ISMETT, Palermo

La fibrosi cistica (FC) è ancora oggi una malattia che mette a rischio la vita, anche se il miglioramento delle strategie terapeutiche ha prodotto risultati importanti riguardo a durata e qualità della vita. Per i malati in cui l'evoluzione determina uno stato di insufficienza respiratoria cronica non più controllabile dalle cure tradizionali, il trapianto polmonare rimane ancora oggi l'unica possibilità terapeutica; i buoni successi ottenuti in questo campo spiegano perché la FC rappresenta, in tutti i paesi del mondo, una delle indicazioni più comuni al trapianto di polmone (1). La decisione di quale sia il momento migliore per programmare il trapianto dipende da una valutazione complessiva del paziente. In questa valutazione si tiene conto di vari indicatori come lo stato della funzionalità polmonare (espresso con il valore della FEV1), il fabbisogno di ossigenoterapia, la resistenza allo sforzo, la presenza di ipertensione polmonare, la colonizzazione batterica, la frequenza e l'entità delle riacutizzazioni infettive respiratorie, l'entità di risposta alla terapia antibiotica e antiinfiammatoria, lo stato nutrizionale, lo stato del cuore e dei reni. Sono importanti anche il grado di compenso psicologico della persona e le risorse affettive e ambientali di cui può disporre. Inoltre negli ultimi anni hanno assunto importanza due variabili che potrebbero compromettere gli esiti a distanza del trapianto polmonare: il fatto che il paziente si trovi ad aver necessità di un supporto respiratorio extracorporeo o presenti infezione da *Burkholderia cepacia*. Per ciò che concerne il supporto respiratorio, va ricordato che il continuo progresso tecnologico in campo biomedico ha portato allo sviluppo di apparecchiature che consentono di sostituire la naturale funzione respiratoria del paziente (ECMO: *Extra Corporeal Membrane Oxygenation* – ossigenazione attraverso membrana estracorporea). Queste permettono il prolungarsi delle terapie e del mantenimento in vita del malato per un periodo ancora da definire e rappresentano un "bridge" (ponte) al trapianto. Si vanno espandendo in Italia e nel mondo esperienze che indicano come queste procedure rappresentino un possibile importante cambiamento di prospettiva, anche se sono ancora gravate da molti interrogativi scientifici ed etici (2).

Disponibili nuove tecniche che fanno da "ponte" al trapianto, ma aprono anche nuovi interrogativi

L'infezione da germi multiresistenti, come quelli del *Burkholderia cepacia* complex (BCC) continua a rappresentare un serio problema e la tendenza di gran parte della comunità medica internazionale è quella di non candidare i pazienti con questa infezione all'immissione in lista d'attesa per il trapianto, perchè tale infezione condizionerebbe una peggiore prognosi dopo il trapianto: particolare importanza avrebbe la presenza di *Burkolderia cenocepacia* (una specie batterica appartenente al gruppo *Burkolderia cepacia* complex). L'esperienza inglese (3) è una delle più recenti e riguarda 216 pazienti con fibrosi cistica di cui 22 con infezione da *B. cepacia* complex e 12 con infezione da *B. cenocepacia*. Nove di questi ultimi pazienti sono deceduti nel primo anno e in otto casi la morte è stata causata da una sepsi (= infezione generalizzata). Nei casi di infezione altre specie di *B. cepacia* l'esito è stato complessivamente più favorevole e paragonabile all'andamento generale dei trapianti polmonari. Vista l'esperienza negativa, il Centro Trapianti di Newcastle si è orientato verso una politica di trattamento conservativo con i pazienti FC con infezione da *B. cenocepacia*. Questo sembra rimanere ancora oggi l'atteggiamento più diffusamente adottato. È comunque da segnalare in Italia l'esperienza del Centro Trapianti di Roma, presso il quale sono stati trapiantati infatti 7 pazienti colonizzati da *B. cenocepacia* con risultati decisamente positivi. Presso il Centro ISMETT di Palermo, dal 2005 al 2010, 4 pazienti con *B. cenocepacia* sono stati sottoposti a trapianto polmonare: 3 su 4 sono vivi ed in buone condizioni ad un follow up medio di 2.8 anni.

I criteri per l'inserimento in lista per trapianto sono continuamente aggiornati: l'esempio dell'infezione da *Burkolderia cepacia*

La scelta dei criteri per la messa in lista per trapianto dei pazienti con fibrosi cistica impone quindi un continuo aggiornamento ed analisi dei dati disponibili con l'aumentare dell'esperienza a livello nazionale e internazionale. Le valutazioni cliniche devono essere effettuate collegialmente dalle equipe multidisciplinari che si occupano di trapianto polmonare, con l'obiettivo di mantenere al centro dell'attenzione il benessere e la salute dei pazienti. Gli stessi criteri sono in continua evoluzione e oggi spesso viene presa una decisione sul singolo caso, valutandolo in maniera ponderata e condivisa fra i chirurghi dei centri trapianto e i medici dei centri di cura della fibrosi cistica.

Gli ultimi dati noti sui trapianti in FC in Italia sono quelli riguardanti una indagine effettuata dalla Commissione Trapianti della Società Italiana FC, che riporta dati raccolti fino al 2006 (4). Dati più aggiornati ci vengono dal Registro Italiano Trapianti (RITP, gestito dalla Associazione Italiana Pneumologi Ospedalieri) nel periodo compreso tra il 1991 e il 2010. Questo registro raccoglie le informazioni riguardanti i trapianti di polmone eseguiti per varie indicazioni. Dai dati del Registro si rileva che attualmente solo circa il 50% delle richieste di trapianto polmonare (per tutte le patologie) vengono esaudite, mentre il 35% dei pazienti in lista purtroppo muoiono prima di arrivare al trapianto; il problema della scarsa disponibilità di organi incide pesantemente su questo aspetto. Sempre dai dati del Registro Italiano si può osservare, in relazione con l'aumento della richiesta di trapianto polmonare, un aumento del tempo di attesa in lista, che passa da una media di 3,5 mesi nel 1991 a 14,5 mesi nel 2010.

Questi i dati negativi, vediamo ora quelli positivi. Confrontando i dati della esperienza italiana con quella della Società Internazionale per il Trapianto di Cuore e Polmone (IHSLT), si vede *(tabella 1)* come in Italia, più che altrove, si attui il trapianto polmonare per FC (fra tutte le patologie per cui vi è indicazione al trapianto, in Italia i casi dovuti a FC rappresentano il 44% contro il 27% del registro internazionale).

TABELLA 1

	RITP - Dati AIPO - RITP 2010	IHSLT - Dati IHSLT 2011
Fibrosi polmonare	15,3%	16%
Ipertensione Polmonare	5,4%	5%
BPCO/Enfisema	18,4%	26%
Fibrosi cistica	44%	27%
Altro	16,3%	17%

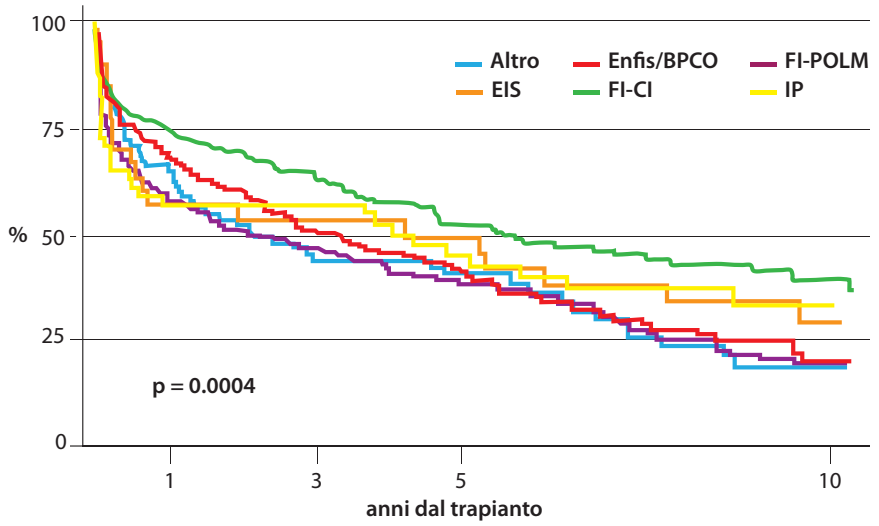
Patologie che hanno richiesto trapianto di doppio polmone nell'esperienza italiana del periodo 1991-2010 (RITP) confrontata con l'esperienza internazionale (IHSLT) del periodo 1995-2010. Percentuale di pazienti per patologia.

I dati del Registro Italiano Trapianti

Dal registro della stessa Società Internazionale (5) riportiamo i dati relativi alla sopravvivenza post-trapianto per FC fino al 2007: ad 1 mese, 1 anno, 3 anni, 5 anni e 10 anni è stata rispettivamente del 92,4%, 80,6%, 65,2%, 53,8% e 32,1%. E, fino al 2007, dal Registro Italiano (6) si poteva osservare una miglior sopravvivenza dei pazienti sottoposti a trapianto per fibrosi cistica rispetto ad altre patologie, con risultati a 10 anni dal trapianto lievemente superiori rispetto a quelli del Registro Internazionale (39% contro 32%) *(figura 1)*.

I dati relativi alla sopravvivenza migliorano sensibilmente con il passare del tempo

FIGURA 1



Curve di sopravvivenza attuariale dopo trapianto di polmone in Italia, stratificate per indicazione al trapianto (anni 1991-2007) - *Dal Registro Italiano del Trapianto Polmonare (AIPO).*

Ciascuna curva descrive la percentuale di pazienti che sopravvive anno per anno a partire dal momento del trapianto.
Enfis/BCO: Enfisema/Broncopneuomopatia cronica ostruttiva (197 casi); FI-POLM: fibrosi polmonare(334 casi); EIS:Sindrome di Eisemenger (11 casi); FI-CI: fibrosi cistica (270 casi); IP: ipertensione polmonare(38 casi); Altro: fibrosi polmonare da connettivopatia, sarcoidosi, istiocitosi, linfoangioleimiomatosi, bronchioliti da GVHD dopo trapianto di midollo, sindromi bronchiectasiche non correlate a fibrosi cistica, altre patologie più rare

Il dato attuale è che se si confronta l'andamento della curva di sopravvivenza in diversi periodi storici si può vedere che c'è un netto miglioramento nel tempo. Questo progresso va messo in relazione con il miglioramento sia dei protocolli di follow-up e terapia post-trapianto, sia dei criteri di selezione pre-trapianto (*figura 2*, Dati AIPO del Registro Nazionale Trapianti 2010 - cortesia del dott. T. Oggionni).

La Commissione Trapianti della SIFC ha avviato di recente un'indagine multicentrica allo scopo di realizzare una fotografia su scala nazionale riguardante i pazienti messi in lista d'attesa negli ultimi 4 anni, allo scopo di valutare la situazione generale e in particolare capire l'influenza di alcune variabili (la ventilazione non invasiva, l'ECMO) sull'esito del trapianto polmonare. L'importanza di queste informazioni è dovuta anche al fatto che di recente è stato stilato dalle organizzazioni che riuniscono i Centri Trapianto italiani, un protocollo (Protocollo Nazionale per le Emergenze del Polmone, 13 ottobre 2010) per diminuire il tempo in lista d'attesa dei pazienti più critici, non più rispondenti alle cure o improvvisamente aggravati e per questo sottoposti a misure di ventilazione invasiva.

Il trapianto di lobi polmonari da donatore vivente

Non c'è dubbio comunque che la scarsa disponibilità di organi espiantati da donatori deceduti condiziona fortemente tutto il problema dei trapianti di polmone. Questa è la ragione principale per cui in epoca molto recente si è cominciato a considerare la possibilità di ricorrere al trapianto di lobi polmonari da donatori viventi. Le esperienze

fino a qui raccolte hanno mostrato che per il donatore il prelievo di un lobo polmonare comporta rischi molto ridotti di complicanze intra-operatorie e post-operatorie e assenza di menomazioni significative della sua integrità fisica. Perciò il trapianto polmonare da donatore vivente oggi viene effettuato da diversi centri di trapianto polmonare nordamericani e giapponesi; e da un piccolo numero di centri europei. Da questi centri proviene la maggior parte dei dati clinici riguardanti la fattibilità e la sicurezza del trapianto polmonare da vivente ed il beneficio per i pazienti che lo ricevono (7,8). Questi risultati sono relativi a casistiche ancora piccole rispetto a quelle del trapianto da vivente di altri organi (fegato e rene in modo particolare), però sembrano suggerire che, dal punto di vista chirurgico, l'intervento di donazione del lobo polmonare è, per il donatore, un intervento meno complesso e potenzialmente meno rischioso rispetto all'intervento di donazione di un lobo epatico destro. Una volta superata la fase critica peri-operatoria il donatore può recuperare completamente livelli normali di funzionalità respiratoria e di qualità di vita.

È importante sapere che la donazione di un singolo lobo polmonare non è in grado, nella maggior parte dei casi, di provvedere al bisogno dei pazienti affetti da insufficienza respiratoria terminale, perciò si rende necessaria la donazione di due lobi polmonari contemporaneamente da due differenti donatori. Questo rende maggiore, sempre rispetto alla donazione da vivente di altri organi, la complessità organizzativa e tecnica dell'intervento (negli altri casi un solo donatore è sufficiente per ottemperare alle necessità dell'individuo ammalato). D'altro canto nel corso del tempo è nettamente aumentato il tempo medio dell'attesa di un organo da donatore non vivente (e il conseguente rischio di mortalità per il paziente in attesa), di qui dunque il razionale della nuova strategia.

Due parenti del malato donano ciascuno un lobo polmonare

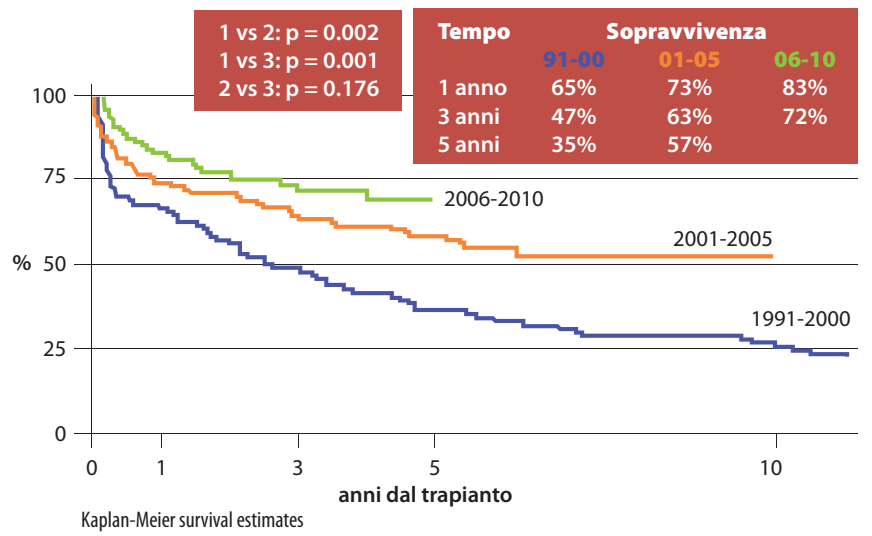
Il trapianto da vivente è considerato, infatti, una tecnica alternativa a quella "classica" (rappresentata dall'utilizzo di polmoni espiantati da donatori non viventi), perchè può essere applicata solo in condizioni particolari. Così come espresso in una recente rassegna (9), i criteri proposti da alcuni per donare un lobo polmonare comprendono: una parentela fino al III grado o il vincolo matrimoniale con il ricevente, un'età compresa tra i 20 e i 60 anni, sistema ABO ematico compatibile, assenza di patologie cardiache o polmonari o pregressi interventi toracici, astinenza da fumo e, ovviamente, il rilascio di un consenso consapevole alla procedura chirurgica a cui si accetta di essere sottoposti. Per ogni trapianto un donatore può essere privato di uno dei tre lobi polmonari a destra e l'altro di uno dei due lobi polmonari a sinistra: per lo più vengono vengono considerati i lobi inferiori. Per quanto riguarda il ricevente, è importante sapere che deve avere una gabbia toracica di proporzioni relativamente ridotte e, comunque, adeguatamente inferiori rispetto a quelle dei donatori.

Per il trapianto da vivente, donatori e riceventi devono avere caratteristiche particolari

Oggi nel mondo sono stati eseguiti circa 400 interventi di trapianto di lobi polmonari da donatore vivente (trapianti eseguiti non solo per FC ma anche per altre patologie polmonari che portano a insufficienza respiratoria irreversibile) e i risultati sembrano essere uguali a quelli dei trapianti effettuati da donatore non vivente. In particolare, nella casistica USA (10), in cui sono raccolti i dati di 123 pazienti trapiantati negli anni 1993-2003, la sopravvivenza risultava 70%, 54%, 45% a 1-3-5 anni rispettivamente; a 5 anni dall'intervento era migliore nella categoria di età tra i 6 e gli 11 anni. Nella casistica del Centro di Kioto, meno numerosa ma più recente (11), i risultati sembrano notevolmente migliori: riguardano 59 pazienti trapiantati nel periodo 1998-2011 e la sopravvivenza risulta essere 88,8% e 83,1% dopo 5 e 10 anni dal trapianto rispettivamente. Viene riferita, nell'ambito di tutte le casistiche esaminate, un'incidenza della bronchiolite obliterante, che è la più frequente complicanza nel periodo post-trapianto, minore rispetto ai trapianti da donatore non vivente. I dati finora raccolti sembrano orientare quindi a prendere in considerazione questa strategia in pazienti di dimensioni corporee adeguate e laddove esista una mortalità significativa in lista d'attesa per trapianto polmonare. La normativa sul trapianto da vivente in Italia è in corso di definizione in sede governativa e ci auguriamo che presto possa diventare una realtà clinica. Si tratta infatti ancora di una ***proposta di legge*** presentata il 12 gennaio 2011, approvata dalla Commissione Affari Sociali della Camera e in attesa di essere esaminata al Senato (vedi Atti Parlamentari-Camera dei Deputati n. 4003, XVI Legislatura).

Infine, nell'ambito delle nuove tecniche che in futuro potrebbero

FIGURA 2



Sopravvivenza Post-Trapianto in Fibrosi Cistica in Italia per periodi storici: 1991-2000, 96 pazienti; 2001-2005, 96 pazienti; 2006-2010, 97 pazienti.
Ciascuna curva descrive la percentuale di pazienti che sopravvive anno per anno a partire dal momento del trapianto.

avere sviluppo e sono orientate ad aumentare il numero di organi disponibili e quindi accorciare i tempi cruciali delle liste di attesa, merita segnalare anche la tecnica di "rivitalizzazione" o "ricondizionamento" di polmoni prelevati da soggetti che sono deceduti dal punto di vista cerebrale ma hanno cuore battente ("ricondizionamento ex vivo"). A causa della morte cerebrale questi polmoni possono essere talora deteriorati e non potrebbero essere utilizzati per il trapianto. Ma sottoposti a rivitalizzazione (una procedura di 4 ore che comporta una toilette del polmone e dei bronchi e rimuove mediatori chimici dannosi e secrezioni), i polmoni vengono "ricondizionati" e dopo trattamento valutati se adatti al trapianto. Questa tecnica, che consentirebbe una più ampia utilizzazione di donatori, è stata applicata finora in pochi casi in Italia e anche all'estero i centri dove si esegue il ricondizionamento ex-vivo dei polmoni sono ancora pochi e perciò le casistiche sono ancora esigue. I primi dati che

Possibile utilizzo di polmoni rivitalizzati

mettono a confronto i trapianti eseguiti dopo ricondizionamento ex vivo con quelli eseguiti con tecnica standard non rilevano differenze di complicanze a breve termine (1 anno dal trapianto). Sono necessari ovviamente dati su casistiche più ampie e follow-up più lunghi.

Bibliografia

1. Adler FR,Liou TG. et al "Lung transplantation for CF" Proc. Am Thorax Soc. 2009;6:619-633
2. Mason DP et al "Should lung transplantation be performed for patients on mechanical respiratory support?" J Thorax Cardiovascolar Surg 2010; 139;765-73
3. De Soyza A et al "Lung transplantation for patients with cystic fibrosis and Byrkolderia cepacia complex infection: a single-center experience" J Heart Lung Transplant 2010; 29:1395-1404
4. Quattrucci S et al "Lung Transplantation for cystic fibrosis in Italy" Transplantation Proceedings 2008; 40: 2003-2005
5. Corris PA "Lung transplantation for cystic fibrosis" Curr Opin Organ Transplant 2008; 13:484-88
6. Oggionni T, Vitulo P, Tinelli C et al "The AIPO Italian Registry for Lung Transplantation: report from 1991-2007" Rassegna di Patologia dell'Apparato Respiratorio 2009; 24:32-39
7. Bowdish ME et al "Long-term pulmonary function after living -donor lobar lung transplantation in adults" Annals of Thoracic Surgery 2005; 79: 418 –25
8. Sweet SC et al "Pediatric living donor lobar lung transplantation" Pediatric Transplantation 2006; 10:861–868).
9. www.fibrosicisticaricerca.it/Fibrosi-Cistica/Progressi-di-ricerca/Il-trapianto-polmonare-da-donatore-vivente.-Stato-dellarte, 15/01/2012
10. Date H. "Update on living-donor lobar lung transplantation" Current Opinion in Organ Transplantation 2011;16:453-57
11. Chen F et al "Outcomes and pulmonary function in living lobar lung transplant donors"Transplant International 2011 Dec 21, ISSN 0934-0874
12. Lindstedt S "Comparative outcome of double lung transplantation using conventional donor lungs and non-acceptable donor lungs reconditioned ex vivo". Interact Cardiovasc Thorac Surg. 2011 Feb;12(2):162-5. Epub 2010 Nov 30

NOI E LA GENETICA

Giuseppe Castaldo
CEINGE-Biotecnologie Avanzate, Napoli;
Dipart. di Biochimica e Biotecnologie Mediche,
Università di Napoli Federico II

La ricerca di base e lo sviluppo di tecnologie per l'analisi sempre più fine del genoma hanno rivelato numerose correlazioni tra geni, mutazioni e malattie dell'uomo, ma hanno anche svelato la complessità dei processi biologici che regolano l'espressione (cioè il funzionamento) dei nostri geni, e che possono causare malattie genetiche.

La genetica "molecolare" studia le molecole responsabili della trasmissione dei caratteri ereditari e le loro alterazioni. Con la scoperta del DNA (1953) e del suo ruolo nei meccanismi dell'ereditarietà, la genetica molecolare ha iniziato ad occuparsi soprattutto del DNA. Il DNA è costituito da una sequenza di molecole chimiche (nucleotidi o basi) disposte in una struttura a doppia elica; i cromosomi contenuti all'interno del nucleo delle cellule sono fatti da una lunga catena di DNA impacchettata in maniera molto efficiente. I geni sono frammenti di questa lunga catena, costituiscono i caratteri ereditari dell'individuo e sono presenti nel genoma in duplice copia (una copia è presente nel cromosoma ereditato dal padre e un'altra in quello ereditato dalla madre). I geni contengono l'informazione per produrre proteine destinate allo sviluppo e alla regolazione delle caratteristiche individuali. A partire dal DNA, la sintesi di una proteina avviene per tappe: il DNA viene inizialmente "trascritto" in una molecola intermedia che è l'RNA messaggero (mRNA); questo porta l'informazione del DNA all'apparato di sintesi di tutte le proteine (il ribosoma). Qui l'informazione viene "tradotta" e composta la proteina, costituita da una serie di molecole dette aminoacidi.

Dai nostri geni tutte le proteine

La proteina CFTR, destinata al trasporto di cloro e acqua dall'interno all'esterno della cellula, è composta da 1480 aminoacidi. Tutte le sostanze organiche presenti in un organismo sono proteine con funzioni di struttura o di enzima. La genetica mole-

colare ha permesso di capire che una mutazione genetica è un cambiamento permanente ed ereditabile nella sequenza delle basi che compongono il DNA di un gene; cambiando la sequenza delle basi cambia il messaggio del gene, quindi il prodotto finale, la proteina, e perciò la caratteristica su base genetica di quell'individuo.

Nell'ultimo decennio l'interesse della genetica molecolare si è spostata anche a livello di proteine (proteomica) studiando le complesse interazioni tra proteine diverse, le cui alterazioni possono essere alla base di malattie. Infine, negli ultimi anni è emerso un ruolo importante delle molecole di RNA non solo come "intermediari" dell'informazione genetica tra DNA e proteine, ma anche come meccanismi di regolazione del funzionamento di geni, e queste molecole di RNA (soprattutto i microRNA) iniziano a loro volta ad essere correlati a malattie genetiche.

Le mutazioni CFTR e l'andamento della malattia

La Fibrosi Cistica (FC) costituisce un esempio del contributo offerto dalla ricerca in genetica molecolare, ma anche delle difficoltà di interpretare il dato dell'analisi molecolare e collocarlo nella storia del singolo paziente. Se ripercorriamo la storia della malattia ne avremo esempio. Nel 1989 fu identificato il gene responsabile della FC, e si accesero le speranze sulla possibilità di sviluppare la terapia genica, basata sul trasferimento del gene "sano" nelle cellule dei malati. Dopo oltre 20 anni non abbiamo centrato quest'obiettivo, e probabilmente altre terapie biologiche (cioè mirate a correggere il difetto molecolare) riusciranno ad offrire risultati efficaci più rapidamente.

A cosa serve la conoscenza delle mutazioni del gene CFTR

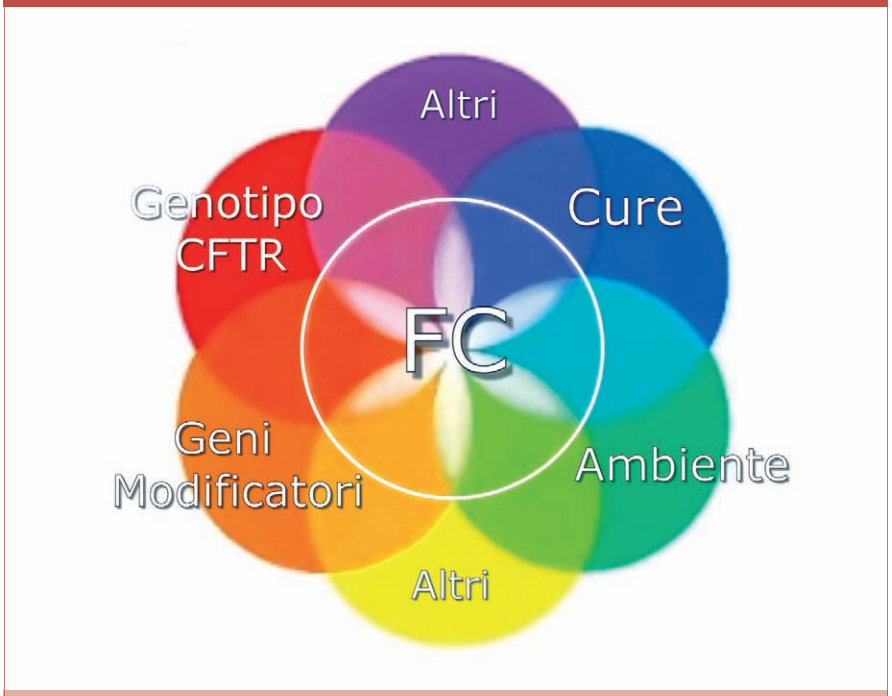
L'analisi molecolare, basata sulla identificazione delle mutazioni del gene CFTR, è un prezioso contributo per i familiari delle persone affette da FC perché permette di riconoscere i portatori sani (anche attraverso lo screening detto a cascata, cioè dal malato agli altri parenti nell'ambito di un gruppo familiare); inoltre consente di offrire alle coppie di portatori la diagnosi prenatale (o la diagnosi preimpianto, cioè la diagnosi su embrione prima del suo impianto in utero, nei paesi in cui è consentita), in mancanza della quale le coppie a rischio spesso rinunciano ad avere figli, e ricorrono a tecniche contraccettive in molti casi non reversibili (1). Inoltre, nei programmi di screening neonatale l'analisi molecolare fornisce un contributo prezioso, soprattutto per escludere la malattia in una larga percentuale di soggetti che hanno valori elevati di tripsinogeno all'analisi della goccia di sangue prelevata nei primi giorni di vita (spot di Guthrie).

Correlazione stretta delle mutazioni CFTR con la situazione pancreatica, debole con la situazione polmonare

Ma se ci domandiamo quale sia il contributo della diagnostica molecolare per il singolo paziente FC (almeno sulla breve distanza), è abbastanza difficile trovare una risposta. L'analisi molecolare non è essenziale per far diagnosi, in particolare nella forma classica di malattia, dove i sintomi e il test del sudore rappresentano ancora i cardini diagnostici di riferimento. Dopo la scoperta del gene, quando furono identificate le prime mutazioni responsabili si cercò di correlare ogni mutazione all'espressione clinica, nel tentativo di prevedere la prognosi della malattia, o addirittura il tipo di terapia individuale sulla base del genotipo. Le oltre 1800 mutazioni responsabili di FC possono essere suddivise in 5 classi sulla base dell'effetto che provocano (*figura 1* della relazione del dott. Galietta a pag. 11) Le mutazioni che causano mancanza completa della funzione della proteina (mutazioni di classe 1, 2, 3) si associano a forme più severe della malattia, quelle che consentono una parziale funzione della proteina (classi 4 e 5) si associano di solito a forme più lievi. Ma questi sono i risultati di calcoli statistici la cui variabilità è enorme, ed infatti pazienti FC con le stesse mutazioni possono presentare quadri clinici completamente diversi. E questa discordanza è spesso evidente anche in coppie di fratelli affetti. Altra difficoltà è che soltanto per una parte delle mutazioni, in genere le più frequenti, si conosce l'effetto. In qualche caso lo si conosce perché il particolare tipo di mutazione non può che causare un solo effetto: si pensi alle mutazioni che fanno arrestare la sintesi proteica, come la G542X e tutte le altre mutazioni la cui sigla finisce con X, cioè le mutazioni stop. Per altre mutazioni si arriva a conoscerne l'effetto attraverso studi in vitro in sistemi di cellule esterne all'organismo. Per le mutazioni più rare (o per mutazioni nuove non descritte in precedenza che sempre più spesso vengono identificate quando si utilizzano le tecniche di sequenziamento del gene) a volte è difficile, senza un'analisi funzionale in vitro molto complessa, definirne l'effetto e quindi offrire alle famiglie una consulenza genetica chiara. Attualmente, uno studio internazionale ha definito con metodi accurati (in parte basati sull'osservazione clinica ed in parte su studi in vitro) l'effetto delle 160 più comuni mutazioni del gene CFTR (www.CFTR2.org). Oltre 10 anni di studi sulle correlazioni tra genotipo e fenotipo (cioè tra la presenza di determinate mutazioni e le manifestazioni della malattia) hanno concluso che, a parte una ristretto numero di mutazioni che sicuramente si associano a forme di FC con sufficienza pancreatica, in tutti gli altri casi non sembra esistere una stretta correlazione tra tipo di mutazione ed espressione clinica della malattia. Ciò dipende dal fatto che, ad esempio, l'espressione polmonare (che condiziona in prevalenza la prognosi della malattia) dipende da una miriade di fattori difficilmente misurabili, intrinseci all'organismo (es. efficienza del sistema immunitario) o esterni, tra cui la presenza di patogeni più o meno virulenti, l'ambiente di vita, l'aderenza alle cure, il grado d'inquinamento ambientale cui l'organismo è sottoposto, ecc., mentre l'espressione pancreatica è poco influenzata da fattori esterni e dipende più strettamente dall'effetto della mutazione.

In ogni caso lo studio dell'effetto delle mutazioni ha il grande merito di aver aperto la strada alla conoscenza dei meccanismi molecolari di malattia, e a nuove terapie basate su farmaci biologici, cioè in grado di correggere il difetto molecolare, come descritto nel sommario del dott. Galietta, che guida in Italia un gruppo di ricerca particolarmente attivo in questo campo. L'analisi delle mutazioni di ogni singolo paziente assumerà allora un ruolo di guida nella terapia: ad esempio, i farmaci "correttori" aiutano a raggiungere la membrana cellulare la proteina CFTR che porta la mutazione F508del; i farmaci "potenziatori" sono in grado

FIGURA 1



I fattori che influenzano i sintomi e il decorso della malattia non sono solo genetici e non sono tutti conosciuti.

di aumentare la funzione di trasposto della proteina, presente in membrana cellulare, che reca alcune mutazioni di tipo missenso (classe 3 e 4), ecc.

Il secondo decennio dopo la scoperta del gene è stato il decennio dei geni modulatori (2). Si è ipotizzato che la severità della malattia potesse dipendere (almeno in parte) dall'effetto di mutazioni in altri geni, diversi dal gene CFTR. Dieci anni di studi hanno permesso di identificare dozzine di geni potenziali modulatori, le cui mutazioni effettivamente correlano con un quadro clinico mediamente più grave o meno grave di FC, ma ancora una volta questi risultati sono poco spendibili nel singolo paziente, e la conclusione è che esistono molti geni modulatori, ciascuno dei quali influenza la malattia in una piccola percentuale di pazienti. Ma anche lo studio di questi geni ha aperto la via a nuovi approcci terapeutici per la FC (3).

La conoscenza dei geni modulatori è importante, anche se non ancora utilizzabile praticamente

Nel frattempo, l'attenzione dei ricercatori si è spostata sulle regioni del gene che non servono a codificare per la proteina; quelle regioni che fino a qualche anno fa erano chiamate "DNA spazzatura" e che oggi sappiamo essere coinvolte nella regolazione dell'espressione genica. Queste ricerche hanno dimostrato che alcune mutazioni che ricadono in queste zone estesissime di DNA (che sono il promotore, gli introni, le regioni non tradotte) possono essere responsabili della malattia, oppure di forme di FC meno severe. Naturalmente è difficile studiare queste zone su vasta scala a causa della loro estensione ed è anche difficile, una volta ritrovata una mutazione, stabilire che effetto abbia sulla funzione della proteina e quindi sulla malattia. Però, anche lo studio delle regioni del gene che non contengono l'informazione genetica ma hanno funzioni regolatorie dei geni (per FC e per altre malattie), ha permesso di identificare nuovi bersagli molecolari di terapie in grado di influenzare l'espressione genica.

Volendo trarre qualche conclusione su …*noi e la genetica* FC dopo 20 anni, vengono in mente alcune considerazioni:

- la ricerca in genetica molecolare, nella FC e in qualunque altra malattia, è in grado di produrre risultati solo dopo anni e anni di ricerca ed investimenti, ma i risultati che offre sono spesso destinati ad influenzare significativamente la storia della malattia. Non è azzardato affermare che a breve inizieremo a curare il singolo paziente, e non più la malattia (medicina personalizzata);
- l'espressione e l'andamento delle malattie genetiche dipende dall'intreccio di numerosi fattori, ed il genotipo è solo uno dei tanti. L'ambiente, gli stili di vita, la precocità della diagnosi, l'assistenza sanitaria e la costanza dei familiari nell'aiutare il paziente a seguire le cure prescritte, ma soprattutto la voglia del singolo paziente di reagire, traendo forza dalla sua stessa malattia, fanno sì che ogni paziente abbia la sua storia, unica ed irripetibile *(figura 1)*. E soltanto un'equipe multidisciplinare di specialisti specificamente formati nel campo della FC è in grado di filtrare tutti questi elementi ed aiutare il singolo paziente e la sua famiglia nel percorso di confronto con la FC;
- la FC è tra le malattie genetiche che, negli ultimi anni, hanno registrato il più rilevante incremento della vita media e delle condizioni di vita. È merito di chi ha attirato l'attenzione sulla malattia ed ha svolto, promosso e coordinato la ricerca scientifica anche attraverso l'aggregazione multidisciplinare, facendosi garante dei risultati ottenuti di fronte ai pazienti e alle loro famiglie e creando continue occasioni di confronto. E se si guarda ai risultati pubblicati sulle riviste internazionali si vede che i ricercatori italiani hanno offerto un contributo forte.

Bibliografia

1. De Braekeleer M, et al "Reproductive attitudes of couplet having a child with cystic fibrosis in Brittany". J Hum Genet 2004;49:285.
2. Cutting GR. "Modifier genes in Mendelian disorders: the example of cystic fibrosis". Ann NY Acad Sci 2010;1214:57-69.
3. Dorfman R. "Modifier gene studies to identify new therapeutic targets in cystic fibrosis". Curr Pharm Des 2012;18:674-82.

Luis J.V. Galietta
Laboratorio di Genetica Molecolare,
Istituto Giannina Gaslini, Genova

PROGRESSI NELLA FARMACOTERAPIA DEL DIFETTO DI BASE NELLA FIBROSI CISTICA

La fibrosi cistica (FC) è probabilmente una delle malattie genetiche in cui la ricerca ha prodotto i migliori risultati per quanto riguarda la salute dei pazienti. Dalla scoperta del gene CFTR, avvenuta nel 1989, c'è stato un progresso continuo delle conoscenze sulla proteina mutata e sulle alterazioni funzionali ad essa associate (1).

Uno degli aspetti più complessi nella FC è la presenza di diverse classi di mutazioni del gene CFTR. Ciascuna di queste classi ha un meccanismo d'azione che richiede un approccio terapeutico specifico. Tale caratteristica costituisce però anche un'opportunità per lo sviluppo di farmaci dotati di alta efficacia e selettività.

Pochi anni dopo la scoperta del gene si scoprì che la funzione della proteina CFTR mutata non è irrimediabilmente compromessa ma può essere recuperata con composti chimici specifici. Questo risultato, ottenuto in laboratorio su cellule in coltura, ha rappresentato un'indicazione importante per la ricerca di farmaci, che sono stati definiti convenzionalmente con il nome di "potenziatori" e "correttori" (1).

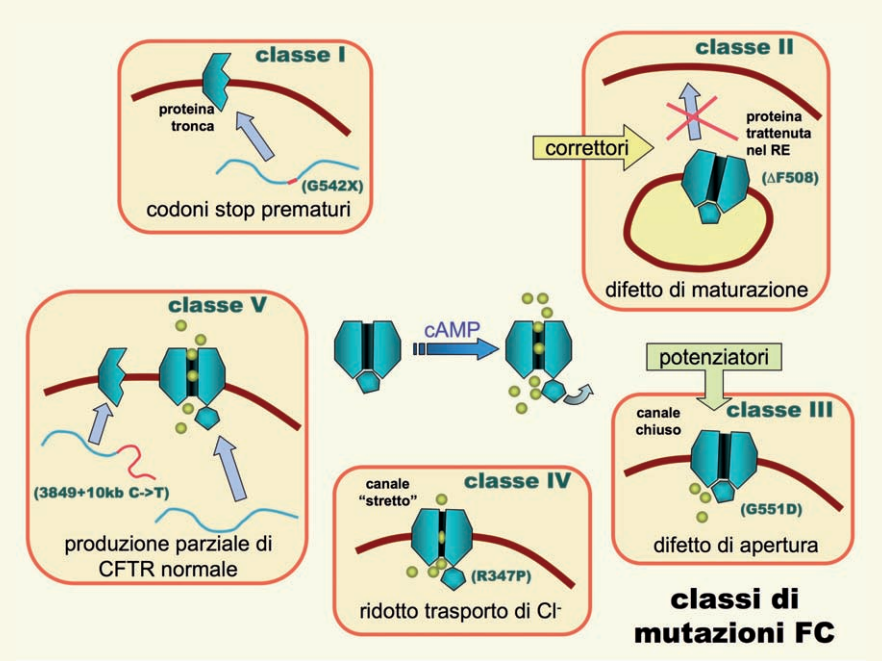
Farmaci potenziatori e correttori di proteina CFTR mutata

I potenziatori sono quei composti efficaci su mutazioni di classe 3 *(figura 1)*, che rendono la proteina CFTR poco attiva. Quindi i potenziatori agiscono stimolando la proteina, facendole raggiungere valori di attività quasi normali. La ricerca di potenziatori è quella che ha ottenuto maggiori risultati positivi (1). Attraverso l'uso di saggi funzionali automatizzati, molti laboratori hanno potuto identificare diversi composti attivi. Uno di questi, il VX-770, scoperto dalla compagnia farmaceutica Vertex, è risultato estremamente efficace e selettivo (2). In studi clinici effettuati su pazienti con la mutazione G551D, il VX-770 ha ottenuto risultati significativi su diversi parametri importanti quali la funzionalità respiratoria, la concentrazione di cloruro nel sudore, i potenziali nasali e il peso corporeo (3). Questi risultati hanno permesso al VX-770 di ricevere, da parte della Food and Drug Administration (FDA) americana, l'approvazione per la distribuzione del farmaco corrispondente, che ha ricevuto il nome di Kalydeco. È molto probabile che Kalydeco potrà essere usato con efficacia anche su molte altre mutazioni di classe 3. Anche se ciascuna di queste mutazioni, presa singolarmente, ha una frequenza molto bassa, la loro somma potrebbe rappresentare una percentuale non trascurabile di tutti i pazienti FC. È stato anche proposto che Kalydeco possa dare un contributo positivo anche a pazienti con mutazioni di classe 4 e 5. Questo però deve essere dimostrato in studi clinici specifici.

Il successo del potenziatore Kalydeco

Purtroppo Kalydeco è risultato non efficace su pazienti con la mutazione deltaF508 (4). Questo risultato non è sorprendente in quanto tale mutazione, pur avendo un difetto parziale di classe 3, ha un difetto ancora più marcato di classe 2. Ciò vuol dire che la proteina CFTR con deltaF508 è incapace di superare con successo il processo di sintesi e di maturazione per cui viene degra-

FIGURA 1



Le classi di mutazioni del gene CFTR. Le mutazioni responsabili di FC sono suddivise in 5 classi sulla base del loro effetto: le mutazioni di classe 1 alterano profondamente il gene e non si produce la proteina CFTR; le mutazioni di classe 2 causano la produzione di una proteina che non riesce a raggiungere la membrana; le mutazioni di classe 3 permettono di sintetizzare una proteina di lunghezza normale, che raggiunge la membrana ma è incapace di svolgere la propria funzione perché non si attiva; le mutazioni di classe 4 causano la sintesi di una proteina in quantità normale che non riesce a svolgere appieno la sua funzione di canale; le mutazioni di classe 5 fanno produrre una proteina normale, ma in minime quantità. In genere più è bassa la classe più severo sarà l'effetto.

data ancora prima di raggiungere la membrana cellulare. In questo caso il difetto deve essere affrontato con farmaci definiti correttori (1).

La ricerca di laboratorio ha dimostrato che il difetto di classe 2 è particolarmente complesso e difficile da correggere (5). La proteina CFTR con la mutazione deltaF508 viene infatti riconosciuta da diversi sistemi di controllo di qualità cellulari che la riconoscono come proteina con struttura alterata, indirizzandola verso la degradazione. Questi sistemi di controllo rappresentano una sorta di "posto di blocco" in cui proteine con difetti di sintesi vengono normalmente trattenute e rimosse dalla circolazione. La presenza in serie di diversi posti di blocco rappresenta un ostacolo al trattamento della proteina mutata con un farmaco singolo. In altre parole, un correttore potrebbe essere in grado di far superare alla proteina CFTR un posto di blocco ma non il successivo. Un tale meccanismo spiegherebbe l'incapacità dei correttori scoperti finora di correggere totalmente il difetto di maturazione del mutante deltaF508. Tali risultati, ottenuti in laboratorio nel corso degli anni, sono stati confermati da studi clinici di fase 2 con il correttore VX-809 (6), sempre sviluppato dalla compagnia Vertex. Infatti, questo farmaco non ha ottenuto in studi clinici un risultato significativo sulla funzionalità respiratoria e ha mostrato un'efficacia molto parziale nel test del sudore nonostante la combinazione con il potenziatore VX-770 (7). Si attendono ulteriori risultati da studi clinici in cui il correttore VX-809 sarà saggiato a dosi più alte. Nel frattempo la ricerca procede su due fronti: la ricerca di correttori singoli o di asociazioni di correttori dotati di maggiore efficacia e lo studio dei meccanismi biologici che sono responsabili del destino della proteina CFTR mutata. In particolare, l'identificazione di tutte le proteine che si associano e controllano CFTR potrebbe facilitare lo sviluppo di farmaci efficaci.

La terapia del difetto di base nella FC può essere anche basata su strategie alternative. Conoscendo gli effetti prodotti dal deficit di CFTR nei diversi organi colpiti si potrebbero approntare strategie che mirano ad aggirare l'ostacolo costituito dalla proteina CFTR mutata. In questo caso gli studi più rilevanti riguardano l'apparato respiratorio. Non è ancora chiaro il motivo per il quale il difetto di trasporto di cloruro nella FC determini la colonizzazione delle vie aeree da parte di batteri quali *Pseudomonas aeruginosa*. La proteina CFTR, attraverso il trasporto di diversi anioni oltre al cloruro, quali il bicarbonato e il tiocianato, è probabilmente importante per la funzione di barriera che svolge il fluido periciliare, cioè il sottile strato di liquido che ricopre le vie aeree. Il deficit di secrezione di anioni ha sicuramente una conseguenza importante non solo sulla viscosità, acidità e spessore del fluido stesso ma anche sulle proprietà antibatteriche di molte proteine in esso contenute. In questo settore la ricerca scientifica, che può sfruttare la creazione di nuovi modelli animali per la CF (8), deve chiarire quali siano i processi essenziali che sono compromessi dalla mancanza di attività della proteina CFTR. Questo tipo di informazione può essere importante per approntare misure compensative che potrebbero essere basate sulla modulazione farmacologica di proteine diverse da CFTR.

La ricerca di nuovi correttori

Bibliografia

1. Verkman AS, Galietta LJ. "Chloride channels as drug targets". Nat Rev Drug Discov 8: 153-171, 2009
2. Van Goor F, Hadida S, Grootenhuis PD, Burton B, Cao D, Neuberger T, Turnbull A, Singh A, Joubran J, Hazlewood A, Zhou J, McCartney J, Arumugam V, Decker C, Yang J, Young C, Olson ER, Wine JJ, Frizzell RA, Ashlock M, Negulescu P. "Rescue of CF airway epithelial cell function in vitro by a CFTR potentiator, VX-770". Proc Natl Acad Sci U S A 106: 18825-18830, 2009
3. Ramsey BW, Davies J, McElvaney NG, Tullis E, Bell SC, Dřevínek 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. "A CFTR potentiator in patients with cystic fibrosis and the G551D mutation". N Engl J Med 365: 1663-1672, 2011
4. Flume PA, Liou TG, Borowitz DS, Li H, Yen K, Ordoñez CL, Geller DE. "Ivacaftor in subjects with cystic fibrosis who are homozygous for the F508del-CFTR mutation". Chest 2012 [Epub ahead of print]
5. Lukacs GL, Verkman AS. "CFTR: folding, misfolding and correcting the ΔF508 conformational defect". Trends Mol Med 18: 81-91, 2012
6. Van Goor F, Hadida S, Grootenhuis PD, Burton B, Stack JH, Straley KS, Decker CJ, Miller M, McCartney J, Olson ER, Wine JJ, Frizzell RA, Ashlock M, Negulescu PA. Correction of the F508del-CFTR protein processing defect in vitro by the investigational drug VX-809. Proc Natl Acad Sci U S A 108: 18843-18848, 2011
7. Clancy JP, Rowe SM, Accurso FJ, Aitken ML, Amin RS, Ashlock MA, Ballmann M, Boyle MP, Bronsveld I, Campbell PW, De Boeck K, Donaldson SH, Dorkin HL, Dunitz JM, Durie PR, Jain M, Leonard A, McCoy KS, Moss RB, Pilewski JM, Rosenbluth DB, Rubenstein RC, Schechter MS, Botfield M, Ordoñez CL, Spencer-Green GT, Vernillet L, Wisseh S, Yen K, Konstan MW. Results of a phase IIa study of VX-809, an investigational CFTR corrector compound, in subjects with cystic fibrosis homozygous for the F508del-CFTR mutation. Thorax 67: 12-18, 2012
8. Keiser NW, Engelhardt JF. New animal models of cystic fibrosis: what are they teaching us? Curr Opin Pulm Med 17: 478-483, 2011

APPENDICE

NUOVE STRATEGIE DI RICERCA FFC IN ITALIA

Gianni Mastella
Direttore scientifico Fondazione Ricerca Fibrosi Cistica

La Fondazione Ricerca Fibrosi Cistica (FFC) compie quest'anno 15 anni di vita. Dal 2002 ad oggi ha dedicato il suo massimo impegno a favorire la crescita di una rete di ricerca sul territorio italiano che ha portato nuove conoscenze sui meccanismi che sono alla base della fibrosi cistica ed ha aperto la strada allo sviluppo di farmaci potenzialmente attivi su tre fronti: correzione del difetto di base, controllo dell'infezione batterica, contenimento dell'infiammazione polmonare (1). Questo è avvenuto grazie a 193 progetti selezionati dalla Fondazione, nei quali si sono impegnati 150 laboratori o centri di ricerca, con complessivamente circa 470 ricercatori ed un investimento finanziario di 12 milioni di euro (2).

Negli ultimi anni questa attività è stata supportata anche da tre importanti servizi laboratoristici centralizzati, istituiti allo scopo di mettere a disposizione materiale e competenze tecniche per le attività di ricerca dell'intera rete: il servizio per i modelli animali (CFaCore, 0spedale San Raffaele, Milano), quello per la quantificazione dell'espressione genica (QuantiGENE, Azienda Ospedaliera Universitaria, Verona) e il servizio per le colture primarie di cellule bronchiali da espianto di polmoni da pazienti trapiantati (Istituto G. Gaslini, Genova) *(vedi figura 1a, 1b, 1c alle pag. 14/15)*. Altri servizi sono in fase di progettazione. Uno di questi, in fase avanzata di implementazione e concepito come servizio alla ricerca clinica, è un database, denominato CFDB, da gestire ed aggiornare continuamente online, che permetterà di scandagliare in tempo reale tutti gli studi clinici in fibrosi cistica, già attuati o in corso di attuazione, ma anche semplicemente progettati *(vedi figura 1d)*.

I servizi creati dalla Fondazione per far camminare la ricerca

Ora è venuto il momento di orientare più decisamente l'attività di ricerca della rete verso sviluppi applicativi. Ciò significa che la ricerca di base, che ha visto sinora importanti contributi italiani, dovrà avere un contenuto più indirizzato a sviluppare strategie terapeutiche innovative nei tre filoni sopraccennati. Al fine di ottimizzare le potenzialità scientifiche della rete di ricerca saranno privilegiati progetti strategici basati sull'aggregazione di laboratori e competenze, alcune delle quali, di particolare rilevanza, saranno prossimamente acquisite. Si andranno a costituire così delle task force di progetto, allo scopo di mettere insieme il meglio delle competenze e delle risorse tecniche intorno a un limitato numero di progetti multicentrici, nei quali dovranno avere parte consistente anche i ricercatori clinici, quelli che vivono più da vicino i problemi delle cure. È questa una sinergia applicata ancora in modo insufficiente in Italia.

FFC apre la collaborazione con l'industria farmaceutica

Per dare prospettiva alla realizzazione di strategie terapeutiche, la Fondazione ha aperto un canale privilegiato di confronto con l'industria farmaceutica. L'obiettivo è quello di consentire di sviluppare in farmaci alcune molecole che, attraverso la ricerca promossa da FFC, si sono rivelate di significativa potenzialità terapeutica. Il passaggio da molecola a farmaco richiede nuove competenze, nuove tecnologie e ingenti mezzi, che solo l'industria farmaceutica può mettere a disposizione. Oggi molte cose sono cambiate e l'industria appare più interessata di un tempo allo sviluppo di farmaci cosiddetti "orfani", quelli che riguardano un numero troppo limitato di pazienti e pertanto apparentemente poco remunerativi sul piano economico. Si tratta di dar vita ad un percorso di collaborazione che, dalla selezione delle molecole più promettenti passi, dopo adeguata formulazione, a cimentarle con studi di tossicologia e di farmacologia su modelli animali, fino all'avvio di studi clinici sull'uomo. Si tratta quindi di costruire un ponte *(vedi figura 2 a pag. 16)* con pilastri che indicano fasi successive del percorso di ricerca: attraverso il ponte è possibile condurre una molecola leader, identificata dai risultati della ricerca di base e preclinica, fino alla sua sperimentazione clinica, dapprima su volontari sani e poi su malati. Avendo percorso un buon tratto del ponte, FFC ha realizzato che per svolgere la fase di ottimizzazione delle molecole candidate a diventare farmaci fosse indispensabile l'aiuto delle industrie farmaceutiche. Per questo ha stipulato al momento con la Compagnia Glaxo Smith & Kline (GSK) un accordo di collaborazione che attende di essere sperimentato e dare i suoi frutti *(figura 3 a pag. 16)*.

Contemporaneamente, la Fondazione si farà carico di incoraggiare e finanziare studi di ricerca clinica mirati a migliorare gli interventi diagnostici e ad ottimizzare quelli terapeutici. Non va dimenticato che i risultati ottenuti negli ultimi decenni sull'attesa di vita e sulla qualità di vita dei nostri pazienti va attribuito in gran parte al progressivo miglioramento dell'organizzazione assistenziale accanto al continuo perfezionamento dei mezzi terapeutici, seppur palliativi, di cui disponiamo: in questa direzione c'è ancora molto da fare, soprattutto tenendo conto che la massima parte dei malati viene oggi diagnosticata vicino alla nascita e quindi con possibilità di fruire precocemente di strategie di prevenzione e di cura, che ancora attendono di essere sperimentate.

Gioveranno in questa "road map" alcune significative alleanze. La prima è quella con la Lega Italiana Fibrosi Cistica (LIFC), con la quale viene siglata, proprio in occasione di questo Seminario, una intesa orientata a mettere insieme molte iniziative ma anche, si spera, più risorse economiche a supporto delle nuove sfide che la ricerca FC dovrà affrontare.

Le alleanze per la ricerca

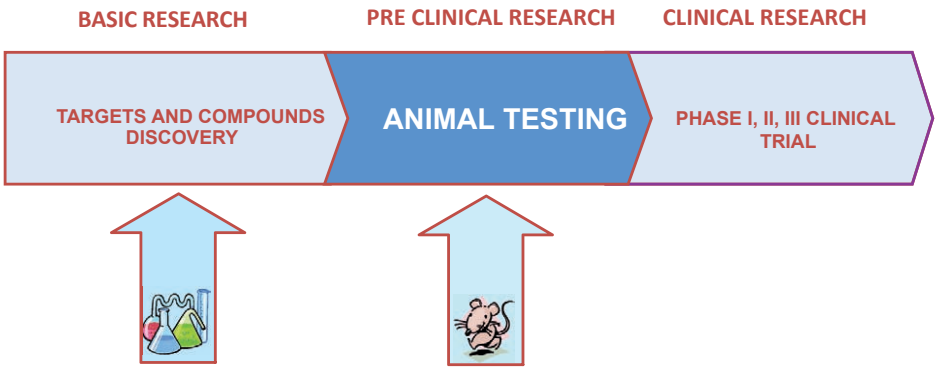
Vi saranno passi di accordo strategico anche con la Società Italiana Fibrosi Cistica (SIFC) e con Telethon, nel tentativo di creare nuove sinergie nell'ambito formativo e di sostegno alla ricerca.

1. Sintesi dei risultati più rilevanti dell'attività di ricerca promossa e finanziata dalla Fondazione Ricerca Fibrosi Cistica dal 2002 al 2011. www.fibrosicisticaricerca.it/Ricerca-e-Formazione/Risultati-piu-evidenti/
2. Progetti, pubblicazioni e impact factor nella ricerca FFC dal 2002 al 2011. www.fibrosicisticaricerca.it/Ricerca-e-Formazione/Pubblicazioni-FFC/Impact-Factor/

FIGURA 1 A

CFaCore
Cystic Fibrosis animal Core Facility

Responsabile: Alessandra Bragonzi



- Mantenimento e genotipizzazione di una colonia di topi CF
- Distribuzione di topi CF ai ricercatori FFC
- Pianificazione ed esecuzione di progetti di ricerca FFC mettendo a disposizione competenze accreditate ed infrastrutture dedicate (stabulario BSL2) per operare e trattare animali infetti.

FIGURA 1 B

Servizio QuantiGENE

Responsabile: Giulio Cabrini

offre al ricercatore della rete FFC:

QUANTIFICAZIONE DELLA ESPRESSIONE GENICA

1. DI SINGOLI GENI
da campioni quali cellule o tessuti, di uomo, topo, ratto, scimmia e batteri,
a scelta del richiedente tra 50.000 geni

2. CONTEMPORANEA DI GRUPPI DI 384 GENI
CON TECNOLOGIA *MACROARRAY*
di uomo, topo o ratto, a scelta del richiedente tra 47.000 geni

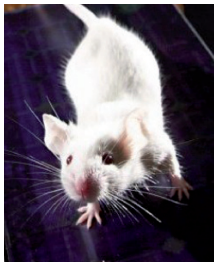


FIGURA 1 C

Istituto G. Gaslini

Colture cellulari primarie da epitelio bronchiale
Responsabile: Luis J.V. Galietta

SERVIZIO ALLA RICERCA: DISTRIBUZIONE COLTURE CELLULARI PRIMARIE DA EPITELIO BRONCHIALE

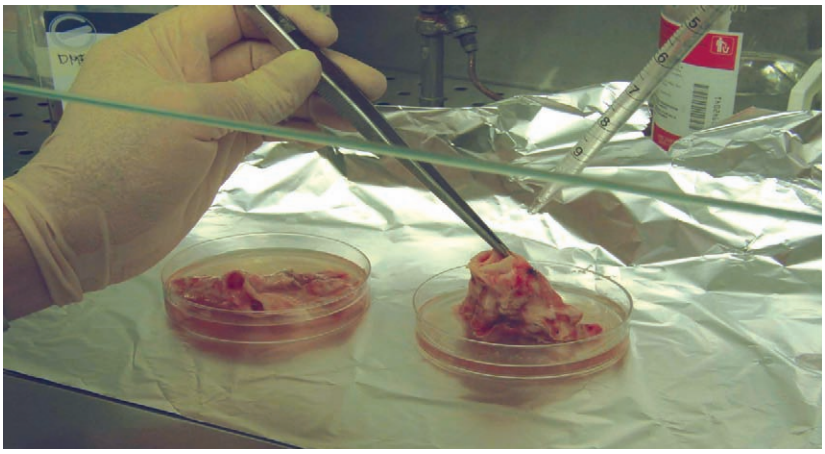


FIGURE 1A, 1B, 1C - I tre servizi laboratoristici centralizzati finanziati da FFC e messi a disposizione dei ricercatori per far progredire la ricerca

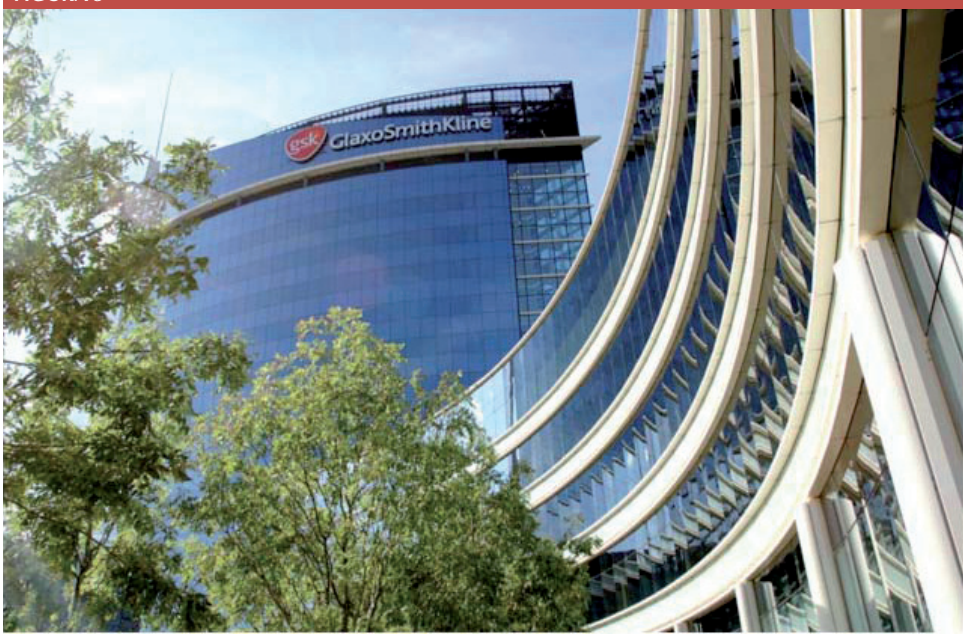
FIGURA 1 D

C F D B
Cystic Fibrosis Data Base
Responsabile: Roberto Buzzetti

Uno strumento web ad uso professionale per valutare rapidamente e correttamente le informazioni scientifiche sull'efficacia clinica degli interventi in FC

FIGURA 2

FIGURA 3



Prospettive di collaborazione con GlaxoSmithKline

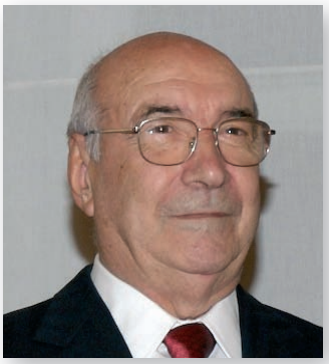
fondazione per la ricerca sulla fibrosi cistica - onlus

presso Ospedale Maggiore, Piazzale Stefani, 1 - 37126 Verona
Codice fiscale: 93100600233

Consiglio di Amministrazione
Presidente Vittoriano Faganelli
Vicepresidente Matteo Marzotto
Consiglieri: Eugenio Bertolotti, Andrea Bolla, Luigi Bozzini, Sandro Caffi, Paolo Del Debbio, Giuseppe Ferrari, Annamaria Giunta, Gianni Mastella, Michele Romano, Luciano Vettore

Direzione scientifica
Direttore scientifico Gianni Mastella

Comitato di consulenza scientifica
Presidente Antonio Cao
Consulenti: Giorgio Berton, Roberto Buzzetti Gerd Döring, Lucio Luzzatto



Presidente
VITTORIANO FAGANELLI

Vicepresidente
MATTEO MARZOTTO

Direttore Scientifico
GIANNI MASTELLA

Presidente Comitato Scientifico
ANTONIO CAO

SERVIZI FFC

Presidenza e Segreteria
(V. Faganelli, G. Cadoni, F. Lavarini)
Tel. 045 8123438-3597 - Fax 045 8123568
fondazione.ricercafc@ospedaleuniverona.it
gabriella.cadoni@fibrosicisticaricerca.it
federica.lavarini@fibrosicisticaricerca.it

Direzione Scientifica (G. Mastella)
Tel. 045 8123567
gianni.mastella@ospedaleuniverona.it
• Vicedirettore (G. Borgo) - 346 5126013
Tel. 045 8127027 - grazborg@yahoo.it

Direzione di Gestione (G. Zanferrari)
045 8127028 - 346 5119284
giuseppe.zanferrari@ospedaleuniverona.it

Amministrazione (E. Fabietti, G. Cadoni)
Tel. 045 8123597-7029
gabriella.cadoni@fibrosicisticaricerca.it

Comunicazione
(M. Zanolli, R. Perbellini, F. Lavarini, M. Cevese)
Tel. 045 8123599-7026-7025-3438
marina.zanolli@fibrosicisticaricerca.it
comunicazione.ffc@ospedaleuniverona.it

Ufficio Stampa (P. Adami)
Tel. 045 581893
patrizia@clabcomunicazione.it

Eventi/Fund-raising (G. Buemi, L. Fratta)
Tel. 045 8127033-7032
giusy.buemi@fibrosicisticaricerca.it
laura.fratta@fibrosicisticaricerca.it

Gestione Delegazioni, Gruppi, Volontari FFC
(J. Bianchetti, M. Giacopuzzi)
Tel. 045 8123604-3605
jessica.bianchetti@fibrosicisticaricerca.it
marina.giacopuzzi@fibrosicisticaricerca.it

Sito internet:
www.fibrosicisticaricerca.it facebook

ISTITUTO ITALIANO DONAZIONE IID DONARE CON FIDUCIA

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

PER DONAZIONI E VERSAMENTI

Donare on-line con carta di credito è facile, sicuro, veloce

- **c/c postale n. 18841379**
- **Bonifico Unicredit Banca: IT 03 N 02008 11718 000009465517**
- **Bonifico Banca Popolare di Verona: IT 60 V 05188 11708 000000048829**
- **On-line sul sito: www.fibrosicisticaricerca.it**
- **5X1000 alla FFC (C.F. 93100600233)**

Le donazioni sono deducibili fino al 10% del reddito complessivo e comunque non oltre 70.000 euro/anno (art. 14 legge n. 80/2005)

Codice Fiscale 93100600233

fondazione per la ricerca
sulla fibrosi cistica - onlus

Italian Cystic Fibrosis Research Foundation

www.fibrosicisticaricerca.it