

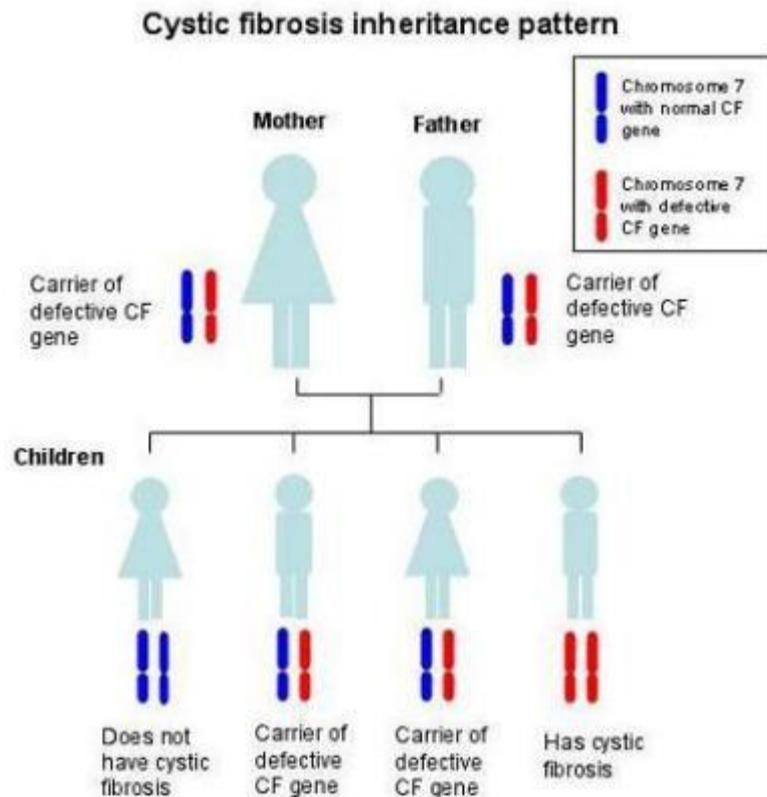
FIBROSI CISTICA

E' la malattia genetica letale più comune fra le popolazioni caucasiche

Incidenza: $\approx 1/2500$ nati vivi

Trasmissione: **autosomica recessiva**

Si stima che almeno 2-4% della popolazione bianca sia portatore della malattia



QUANTI SONO I PORTATORI SANI DEL GENE DELLA FIBROSI CISTICA?

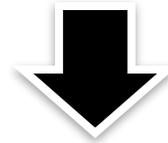


Fibrosi Cistica

- Più comune malattia AR nelle popolazioni di origine caucasica (molto rara nelle altre popolazioni)
- Nati/anno Italia: oltre 200
- Affetti circa 5000-6000 (40% adulti)
- Portatori: oltre 2.200.000
- (Nota: estrapolazioni dai dati di screening neonatale 1993-2000 nel Veneto-Trentino Alto Adige: incidenza osservata FC=1/2705 nati, frequenza dedotta portatori = 1/26,5)
- Sopravvivenza: mediana 30 anni (> 60 anni per alcuni pazienti)

- 1946 Riconosciuta come malattia monogenica**
- 1980 Dimostrazione che tessuto epiteliale negli organi colpiti dalla malattia è impermeabile al Cloro**
- 1989 Isolamento del gene mutato nella FC:
CFTR → Regolatore di conduttanza
transmemembrana della FC**
- 1991 La proteina prodotta da CFTR è un canale che trasporta lo ione cloro attraverso la membrana cellulare**

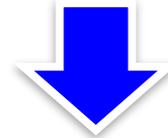
E' caratterizzata da un' **alterazione diffusa del processo secretorio che colpisce tutte le ghiandole esocrine**, sia le muco-secermenti che quelle sudoripare-eccrine sparse per tutto il corpo



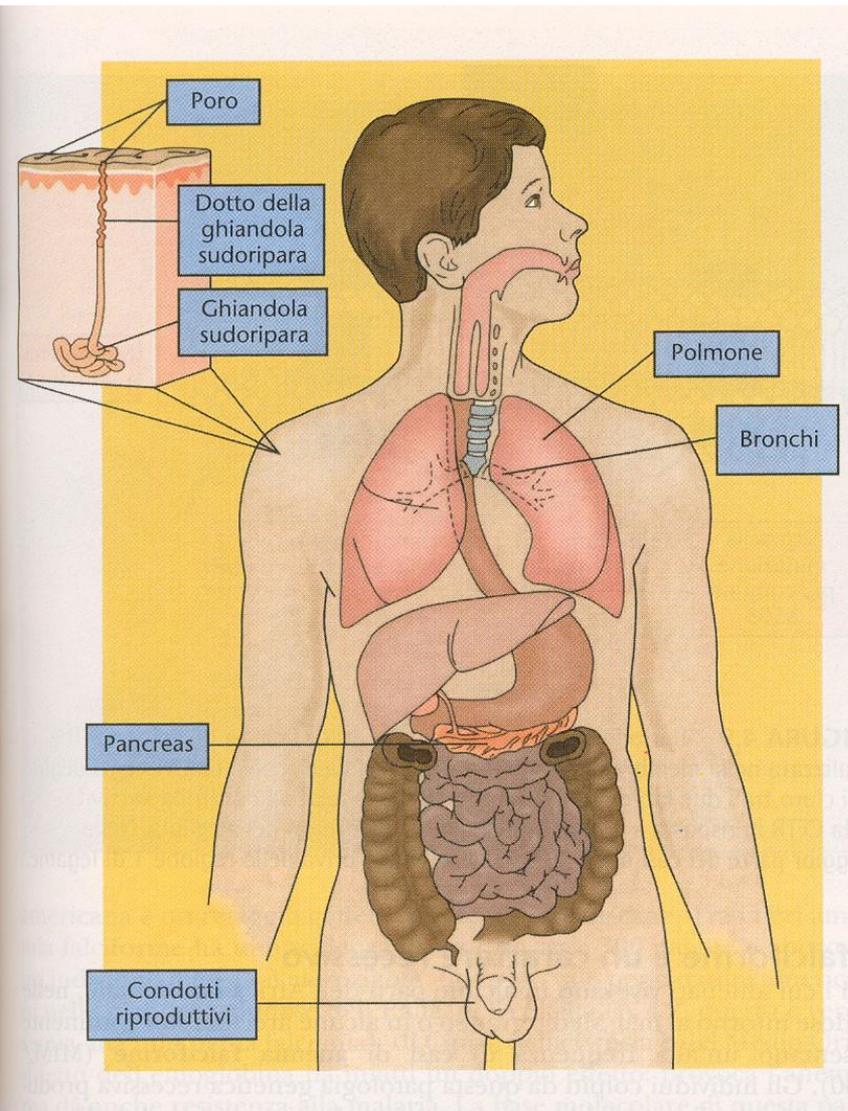
MALATTIA MULTISISTEMICA

Tutte le manifestazioni patologiche della fibrosi cistica sono la conseguenza della aumentata densità delle secrezioni mucose, che ostruiscono:

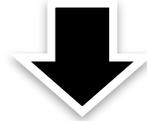
- il lume delle vie aeree
- dei dotti bilio-pancreatici
- dell'intestino fetale



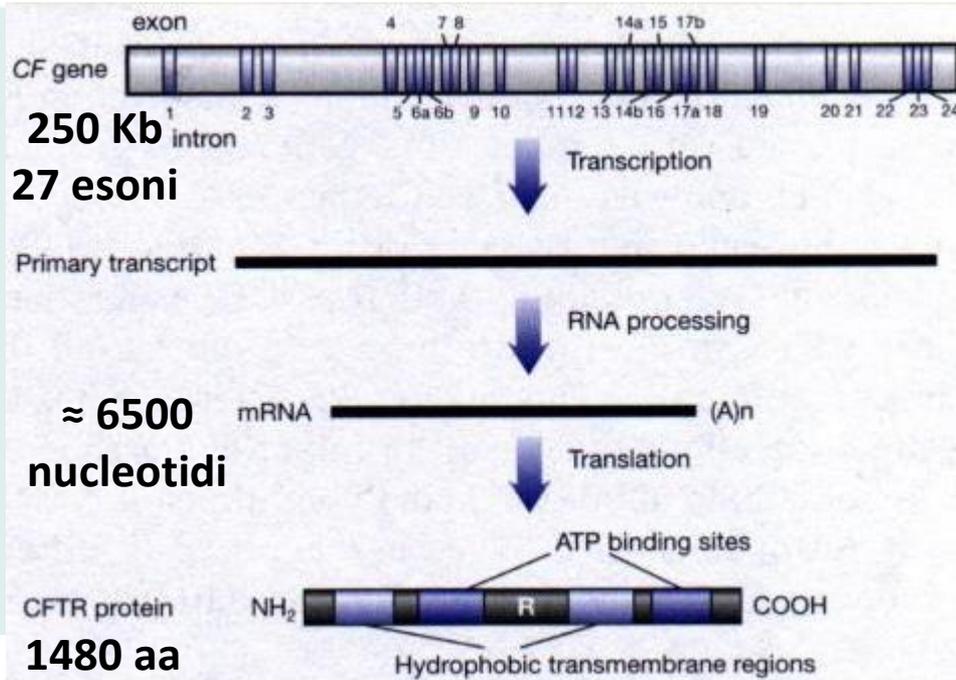
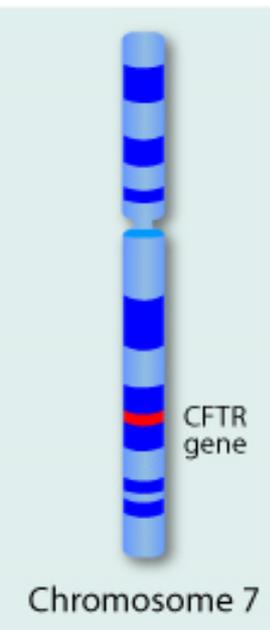
F.C. era chiamata MUCOVISCIDOSI



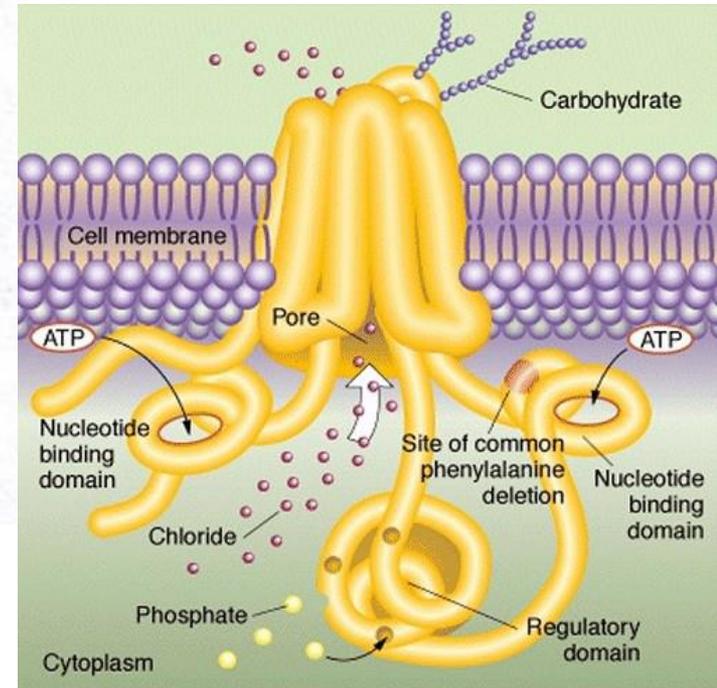
PATOGENESI MOLECOLARE DELLA FIBROSI CISTICA



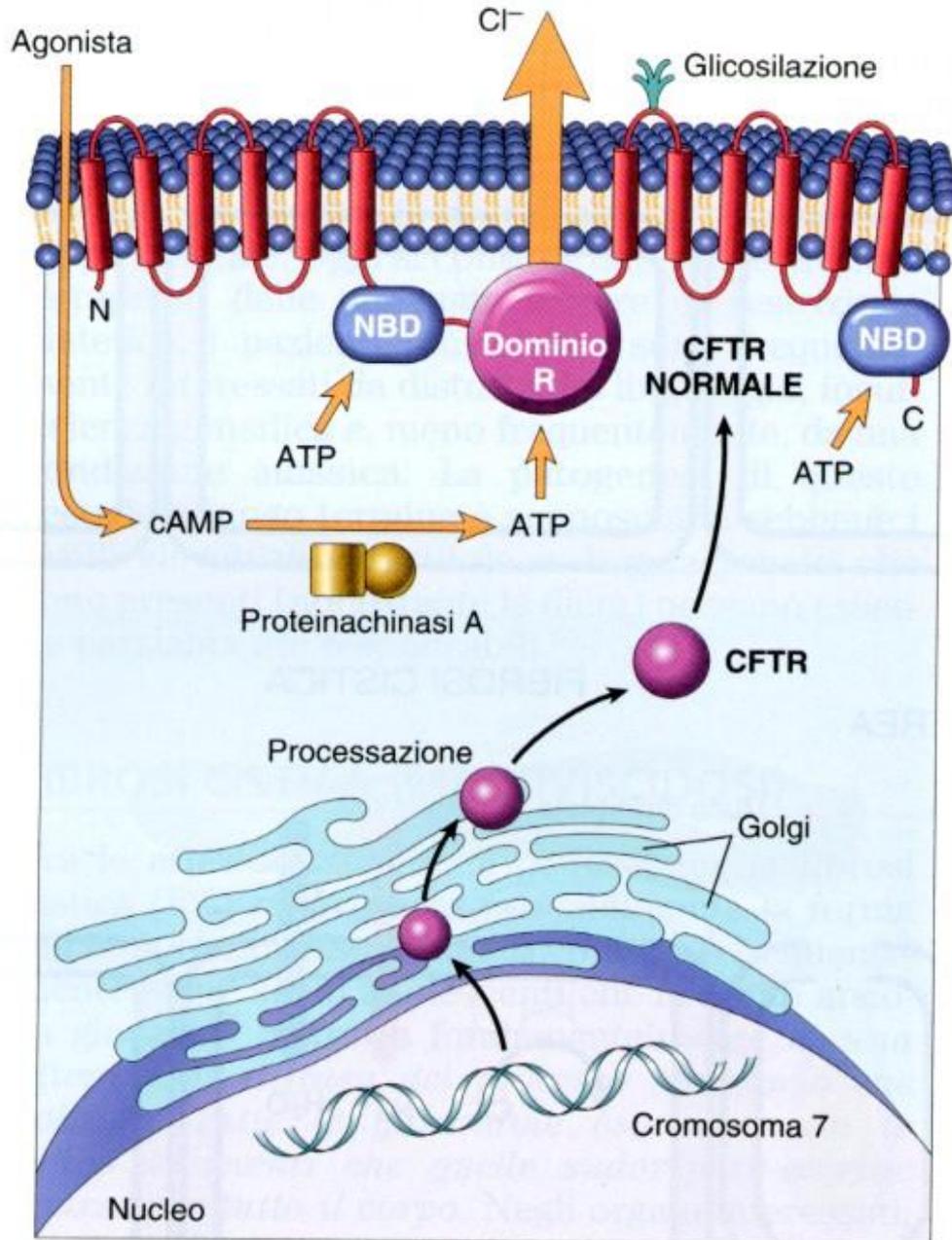
CFTR: Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator
(Regolatore della conduttanza Transmembrana della Fibrosi Cistica)



E' un canale dei CLORURI (Cl⁻)



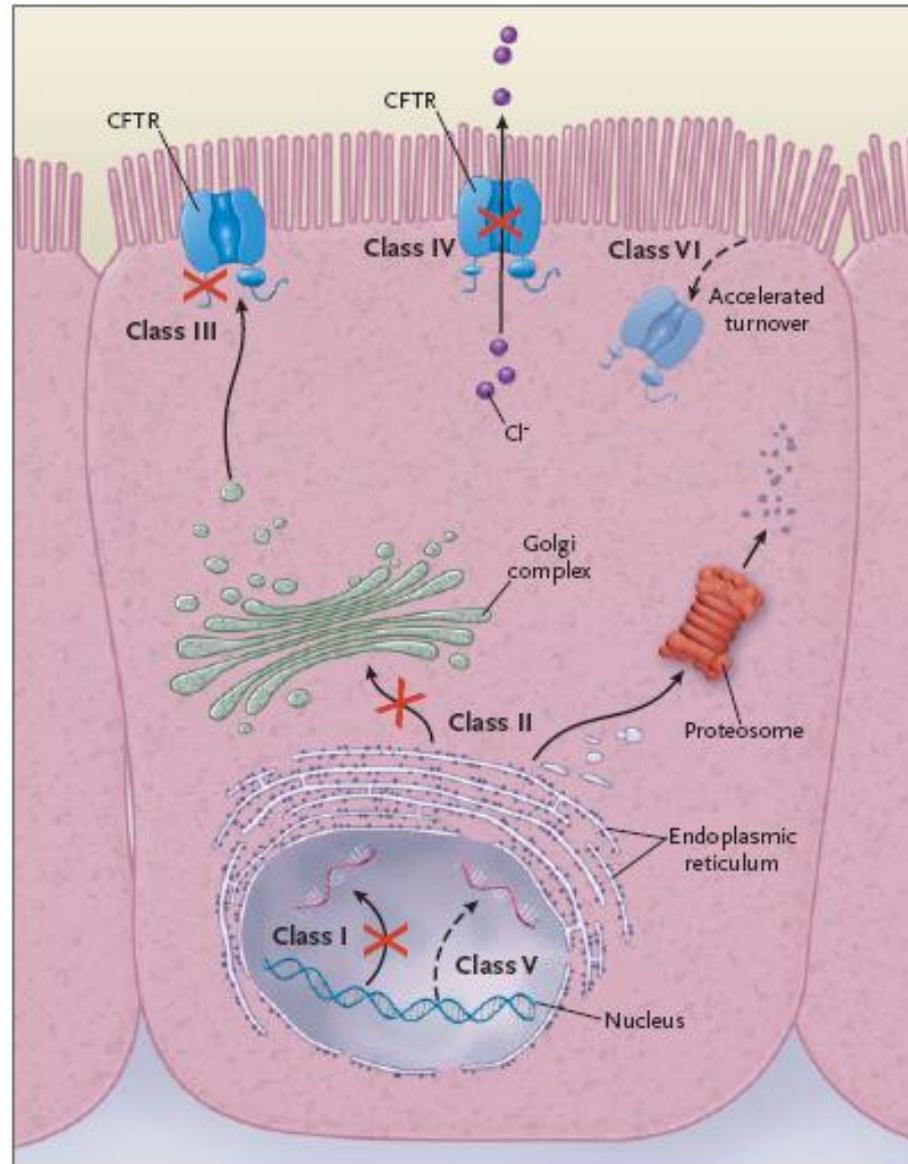
CARATTERISTICHE DI CFTR



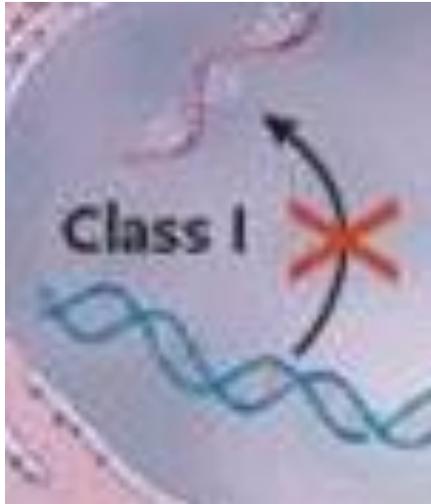
- Fa parte della superfamiglia dei trasportatori ABC
- Subisce glicosilazione post-traslazionale
- Localizzata sulla membrana apicale delle cellule epiteliali (talvolta sulla membrana basolaterale)
- Due domini transmembrana definiscono la selettività del canale
- NBD idrolizzano l' ATP
- Attivazione del canale dipende dalla fosforilazione del dominio R da parte di pKA

CFTR: DIFETTI MOLECOLARI

Le mutazioni della fibrosi cistica (gene CFTR) sono state suddivise in 6 classi in base al loro effetto funzionale



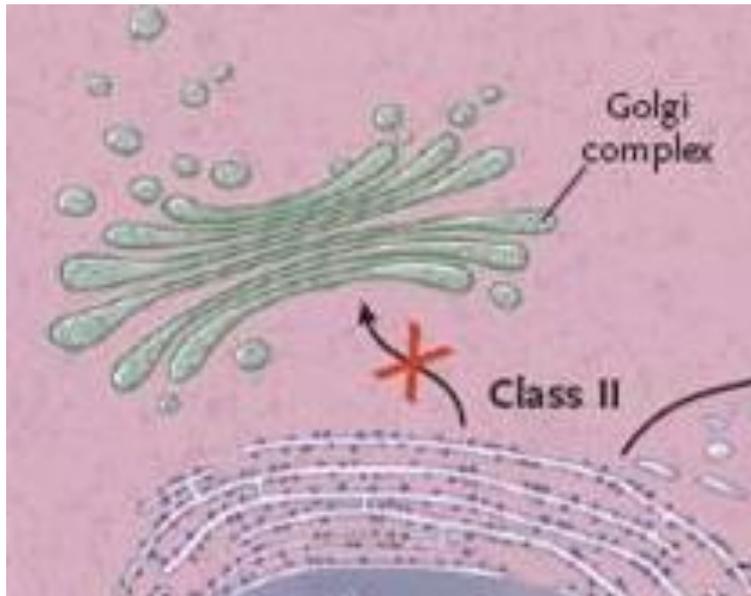
CLASSE I: MANCATA SINTESI



- delezione genica
- mutazioni puntiformi del promotore
- mutazioni NON-senso

Effetto netto: NO CFTR

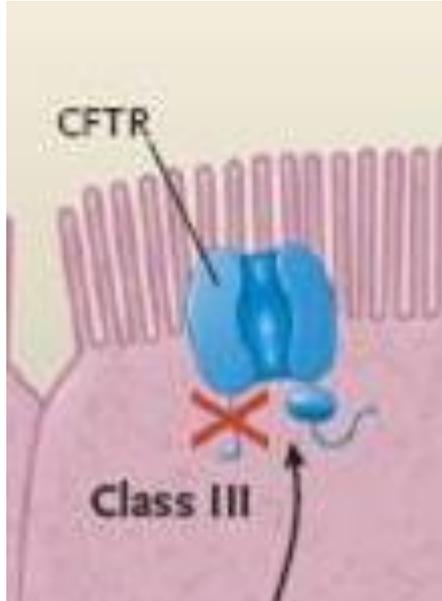
CLASSE II: BLOCCO DELLA MATURAZIONE



- delezione di tre paia di basi
(esempio delezione di Phe508)

Effetto netto: degradazione quindi mancanza di CFTR in membrana

CLASSE III: BLOCCO DELLA REGOLAZIONE



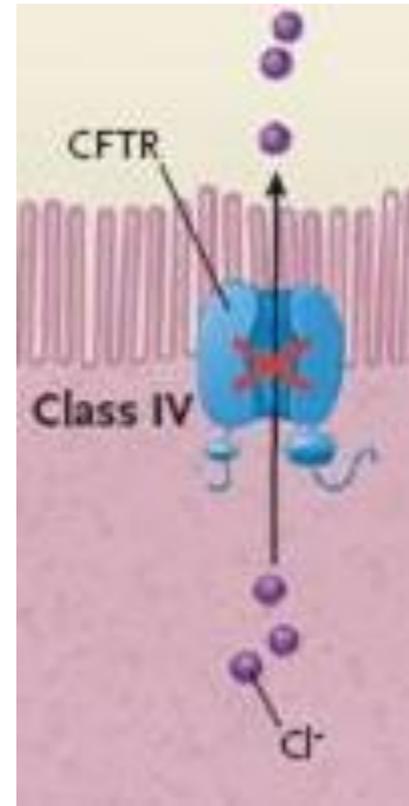
- mutazioni di senso nei siti di legame dell' ATP (esempio G551D)

Effetto netto: quantità normali di CFTR ma NON funzionale

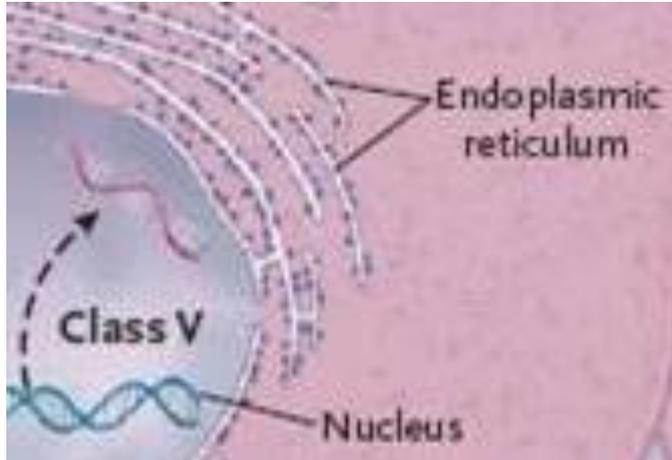
CLASSE IV: RIDOTTA CONDUTTANZA

- mutazioni puntiformi a livello dei MSD (poro) che causano un ridotto trasporto di Cl^- (esempio: introduzione di un residuo amminoacidico idrofobico o carico negativamente)

Effetto netto: ridotta funzionalità di CFTR



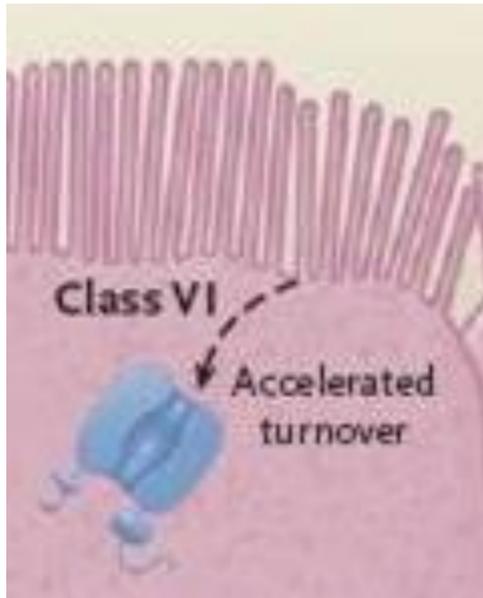
CLASSE V: RIDOTTA SINTESI



- splicing aberrante
- alterata maturazione dell'mRNA

Effetto netto: ridotta espressione di CFTR funzionale

CLASSE VI: RIDOTTA STABILITA'



- mutazioni NON-senso
- mutazione frameshift

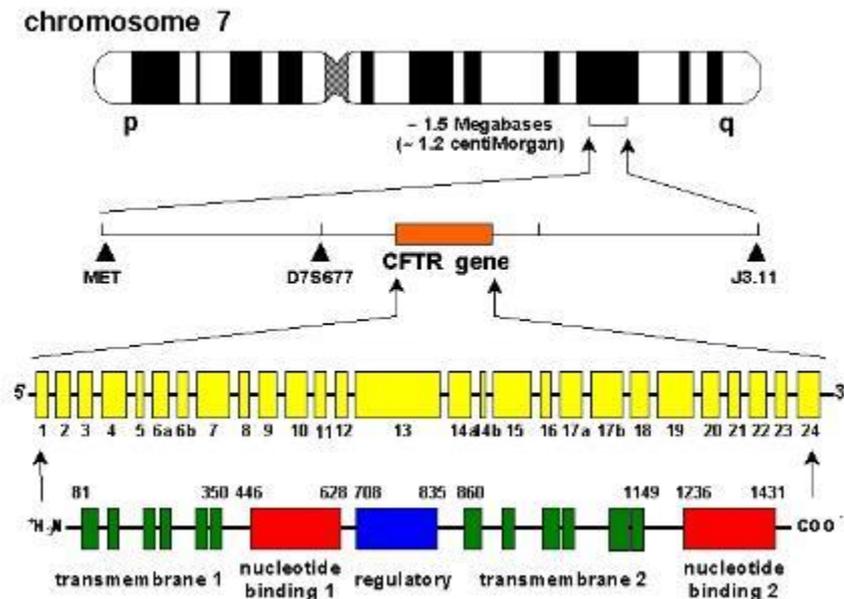
Esempi:

- ✓ C-terminale troncato ⇒ aumentata degradazione da parte del proteasoma
- ✓ N-terminale troncato ⇒ aumentata endocitosi

Effetto netto: CFTR funzionale ma instabile

Common *CFTR* Mutations (Identificate circa 2000 mutazioni di CFTR)

Mutation	Type	Frequency (%)
deltaF508	deletion	(66.0)
G542ter	nonsense	(2.4)
G551D	missense	(1.6)
N1303K	missense	(1.3)
W1282ter	nonsense	(1.2)
R553ter	nonsense	(0.7)
621+1 G->T	splice junction	(0.7)
1717-1 G->A	splice junction	(0.6)
R117H	missense	(0.3)
3849+10kb C->T	alternative splicing	(0.2)

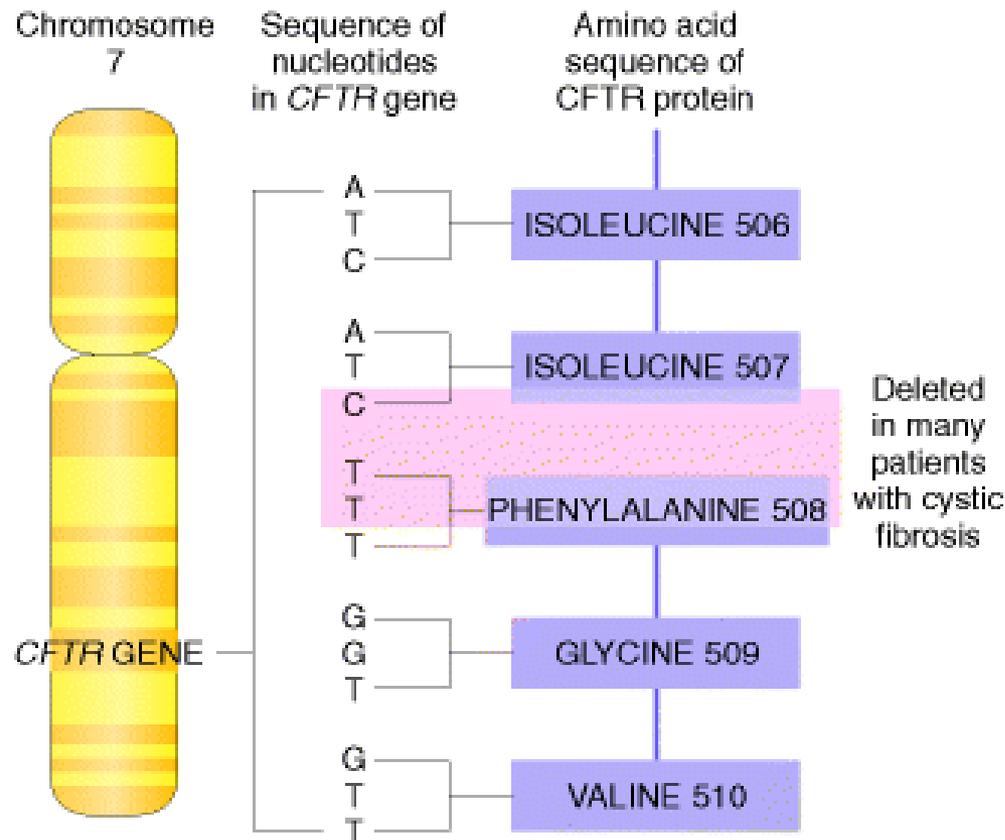


La più comune è $\Delta F508$ → delezione di 3 bp a cui consegue la delezione della Phe 508

Costituisce il: 95% mutazioni danesi

70-80% USA e Nord-Europa

40-50% Europa del sud (49% in Italia)



La più comune mutazione $\Delta F508$ causa un'alterazione del processamento e maturazione della proteina

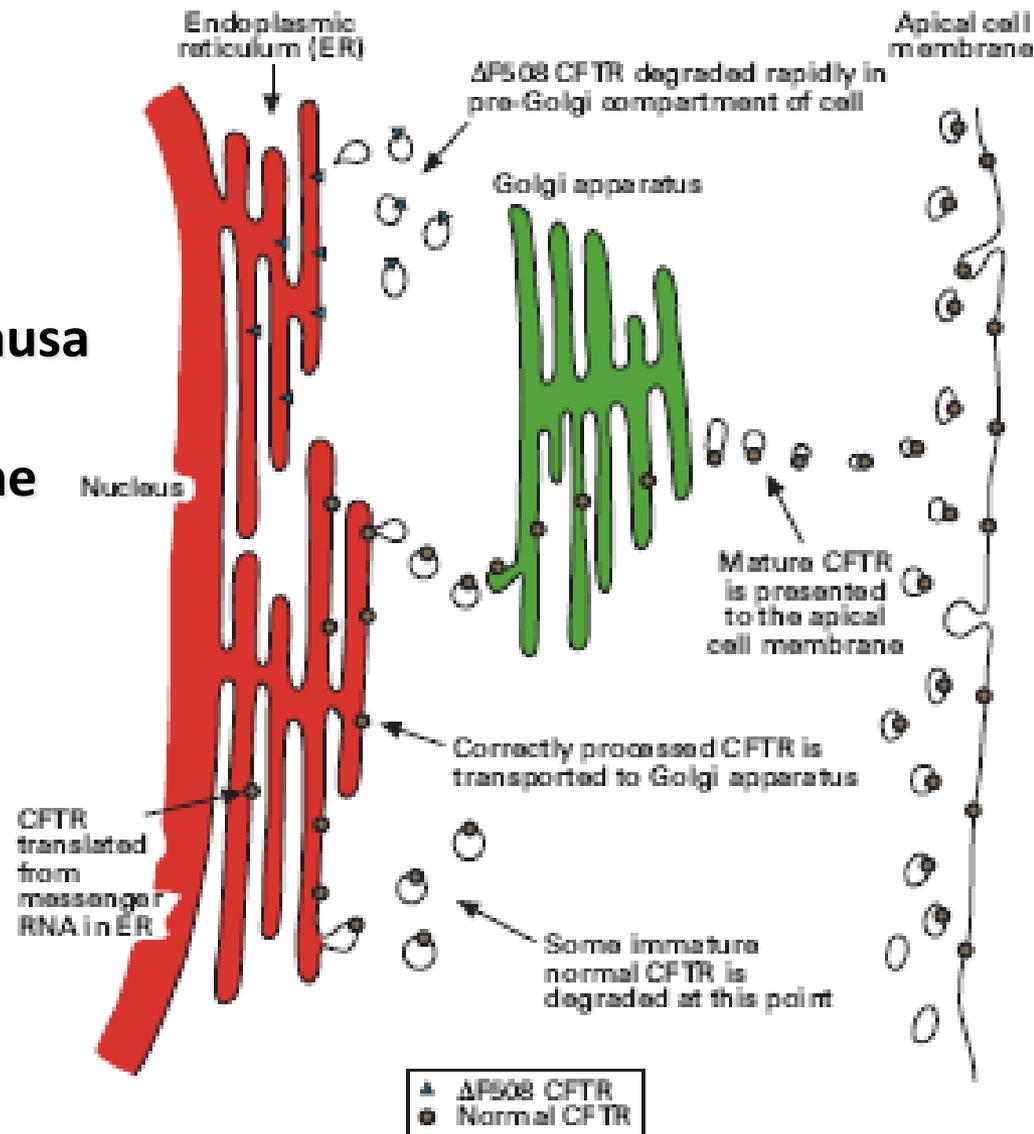


Figure 2 Transport of CFTR through the cell

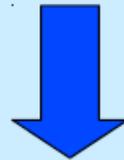
glicosilazione anomala → folding scorretto → riconoscimento da parte del sistema di “controllo qualità” → DEGRADAZIONE

Complessità in una malattia monogenica

La fibrosi cistica presenta un'ampia variabilità nella gravità dell'espressione clinica (configurazione, gravità, età di insorgenza) in particolare delle manifestazioni polmonari, anche tra pazienti con le stesse mutazioni CFTR o addirittura appartenenti alla stessa famiglia

Complessità in una malattia monogenica: Geni modificatori

- Impossibile predire fenotipo CF in base alle sole mutazioni CFTR
- Variabilità nella gravità dell'espressione clinica della malattia si ha anche tra pazienti con lo stesso genotipo CFTR o addirittura appartenenti alla stessa famiglia



- Queste osservazioni suggeriscono l'esistenza di altri geni che modulando l'espressione di CFTR o interferendo con percorsi metabolici comuni altererebbero il quadro clinico in FC

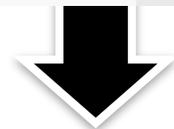
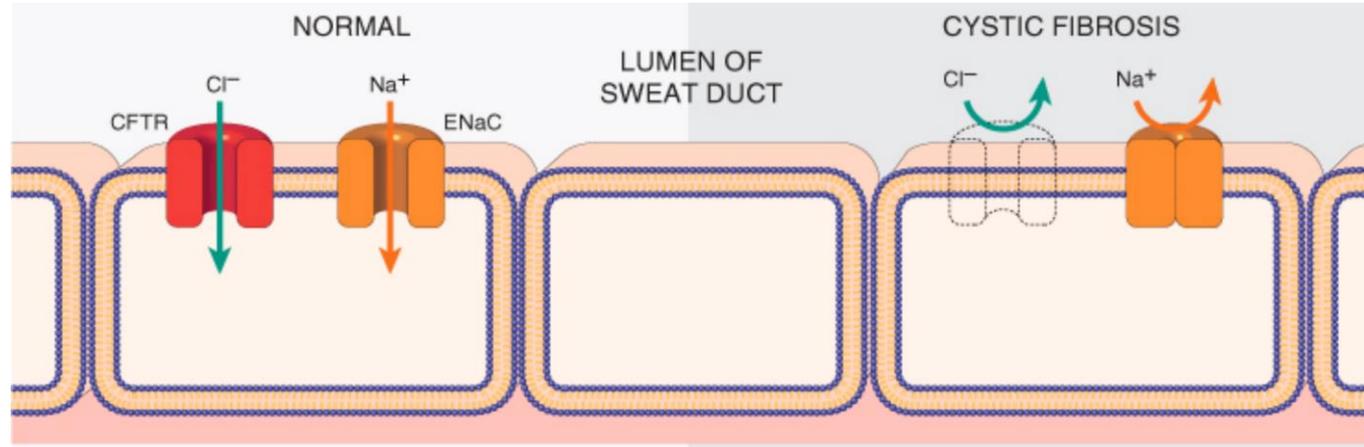
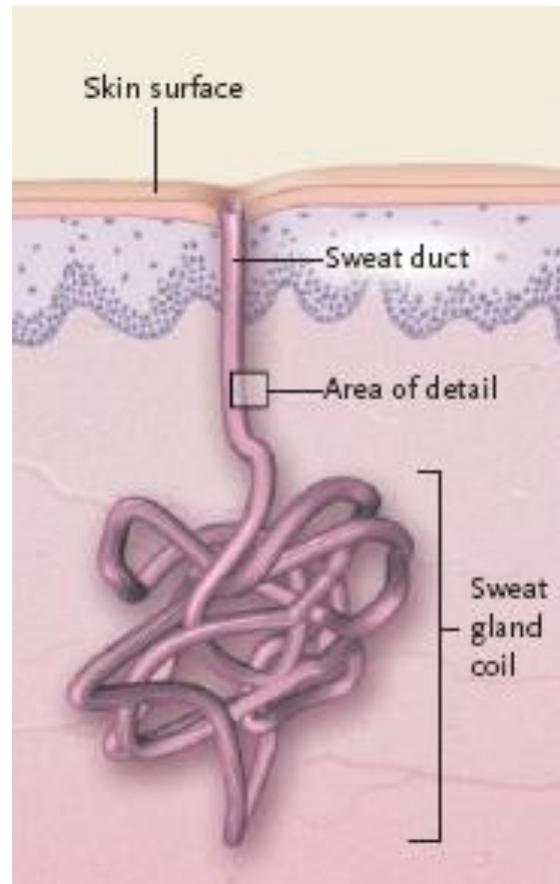
Gene CFTR + molti altri geni -> una malattia

MECCANISMO PATOGENETICO:

Cosa avviene se CFTR non funziona (o non c'è)?

EFFETTI DIFFERENTI NEI DIVERSI TESSUTI:

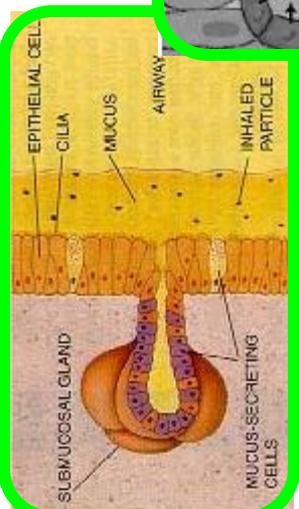
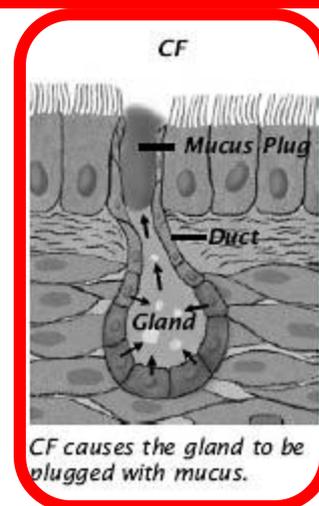
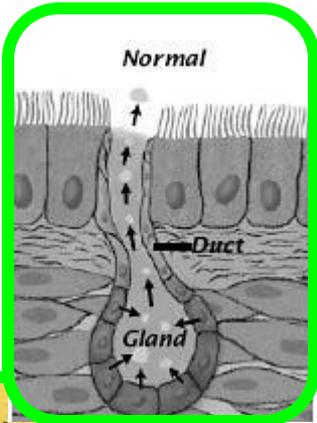
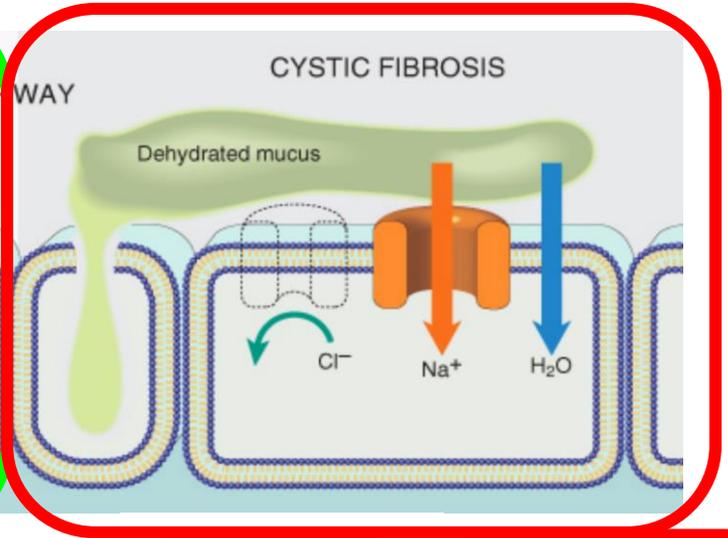
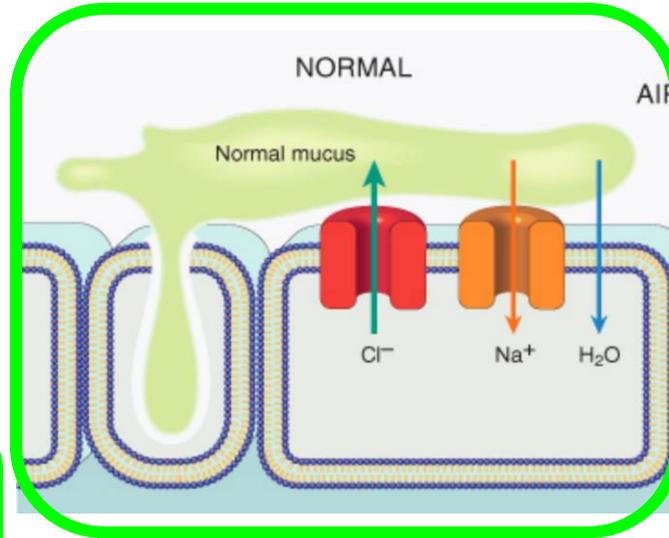
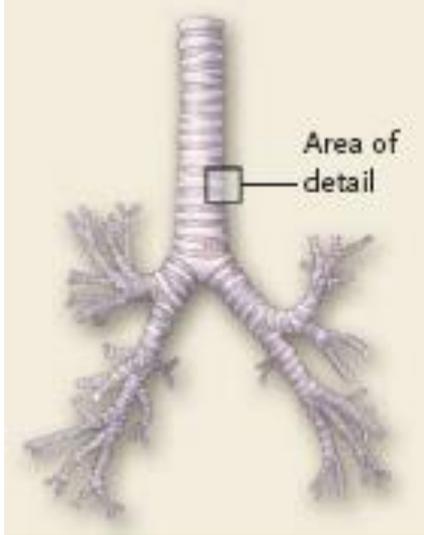
1. GHIANDOLE SUDORIPARE



Decremento del riassorbimento di NaCl ⇒ aumento del contenuto di elettroliti nel sudore

TEST DIAGNOSTICO: DOSAGGIO DEGLI ELETTROLITI NEL SUDORE
⇒ aumenta fino a 70 mEq (normale 40-50 mEq)

2. EPITELIO DELLE VIE AEREE

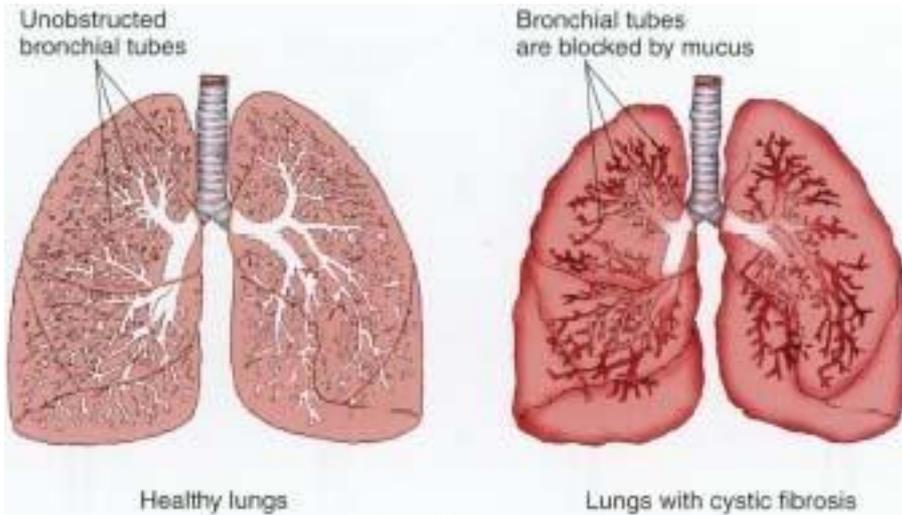


MUCO DENSO CHE INIBISCE L' ATTIVITA' MUCO CILIARE FAVORENDO L' INSORGENZA DI INFEZIONI

ASPETTI CLINICI:

MALATTIA MULTISISTEMICA:

1. APPARATO RESPIRATORIO



**INFEZIONI POLMONARI
RICORRENTI SONO
RESPONSABILI DEL 80-
90% DELLA MORTALITA'
DI QUESTI PAZIENTI**



Mucus blocks
air sacs (alveoli)
in the lungs

Le alterazioni polmonari si riscontrano praticamente in tutti i casi di FC, rappresentano la **complicanza più grave di questa malattia**

- **MUCO DENSO**
- Ristagno nei bronchi
- **Infezioni ricorrenti:** bronchiti, ascessi polmonari, tosse cronica, malattia polmonare ostruttiva cronica
- Si possono poi espandere al tessuto polmonare causando la progressiva distruzione del parenchima polmonare
- **Insufficienza respiratoria**
- **Ipertensione polmonare** (“cor pulmonale”)

2. APPARATO DIGERENTE

- **Pancreas:** Circa l' 85-90% dei pazienti presenta anomalie nella funzionalità pancreatica
 - Ristagno degli enzimi secreti ⇒ **occlusione dei dotti pancreatici** e formazione di **cisti (fibrosi)**
 - **PANCREATITI RICORRENTI CON PERDITA FUNZIONALITA' DEL PANCREAS ESOCRINO**
 - Danno irreversibile:
 - **INSUFFICIENZA PANCREATICA**, con conseguente **MALASSORBIMENTO INTESTINALE** specialmente di lipidi e **AVITAMINOSI** in particolare di TIPO A
 - **DIABETE MELLITO** (in seguito alla distruzione delle Isole di Langerhans)



Mucus blocks
pancreatic ducts

Pancreatic
duct

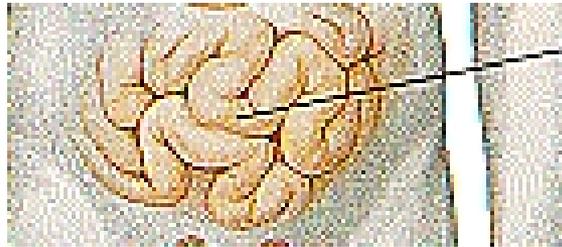
Pancreas

Stomach



- **Intestino:**

ILEO DA
MECONIO
nei neonati

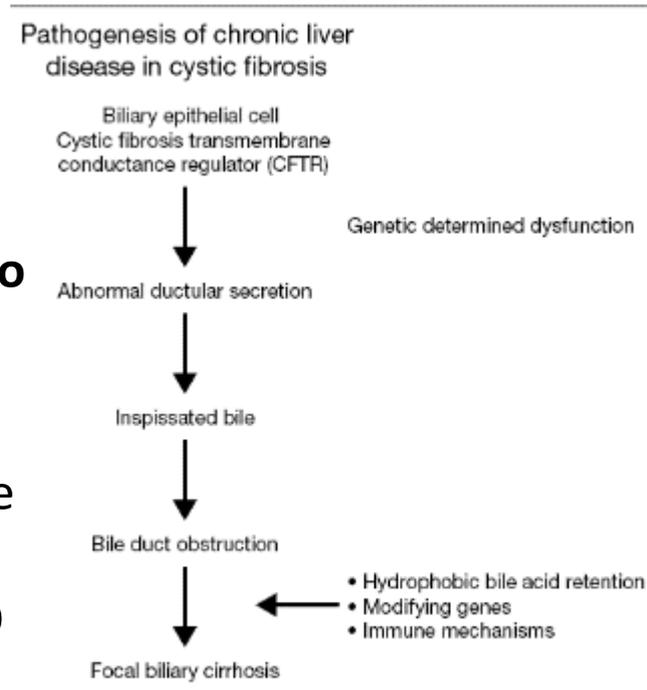


SMALL INTESTINE

Obstruction of the gut by thick stool necessitates surgery in about 10% of newborns.

Fegato: Il coinvolgimento epatico si riscontra solo nel **5% dei pazienti**

- Ristagno in sede epatica della bile
- **CIRROSI FOCALE BILIARE (tipico aspetto nodulare diffuso)**
- **MALASSORBIMENTO INTESTINALE** di lipidi e vitamine liposolubili (AVITAMINOSI DI TIPO A, D o K)



. Pathogenesis of chronic liver disease in cystic fibrosis.

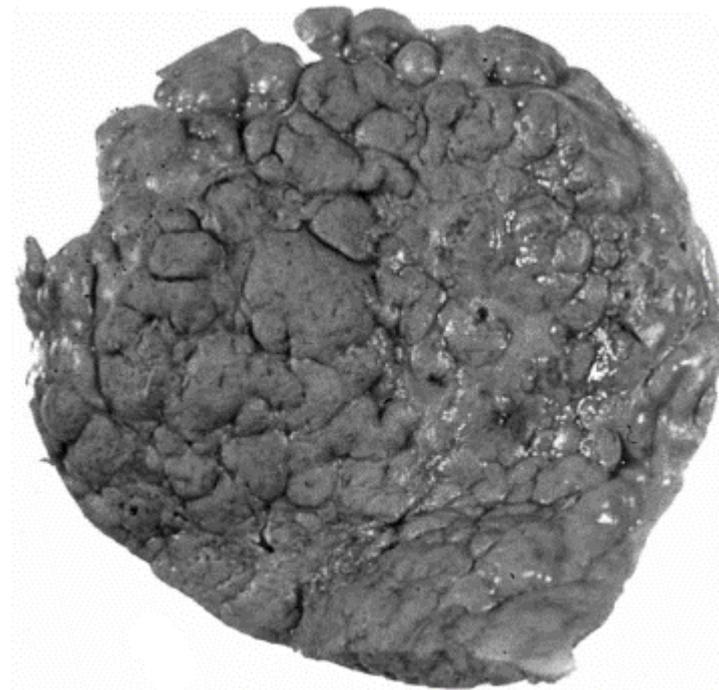


Fig. 2. Post mortem liver showing the typical multifocal nodularity of cystic fibrosis related cirrhosis.

3. APPARATO RIPRODUTTIVO

Apparato riproduttivo maschile	Ostruzione vasi deferenti	Infertilità Sessualità normale
Apparato riproduttivo femminile	Muco cervicale denso	Ridotta fertilità Sessualità normale

4. ALTERAZIONI QUALITATIVE E QUANTITATIVE DEL SUDORE

Ghiandole sudorali	Ipersalinità sudorale	Collasso da calore (perdita acuta di sali)
--------------------	-----------------------	---



Il sudore è ricco di elettroliti perché non avviene il riassorbimento attivo degli elettroliti



Poca sudorazione e quindi rischio di “colpi di calore”

DIAGNOSI

- **TEST DEL SUDORE:** misura la concentrazione di cloro e sodio nel sudore raccolto dopo una stimolazione



The most commonly-used form of testing is the sweat test. Sweat-testing involves application of a medication that stimulates sweating ([pilocarpine](#)) to one [electrode](#) of an apparatus and running [electric current](#) to a separate electrode on the skin. This process, called [iontophoresis](#), causes sweating; the sweat is then collected on filter paper or in a capillary tube and analyzed for abnormal amounts of [sodium](#) and [chloride](#). People with CF have increased amounts of sodium and chloride in their sweat.

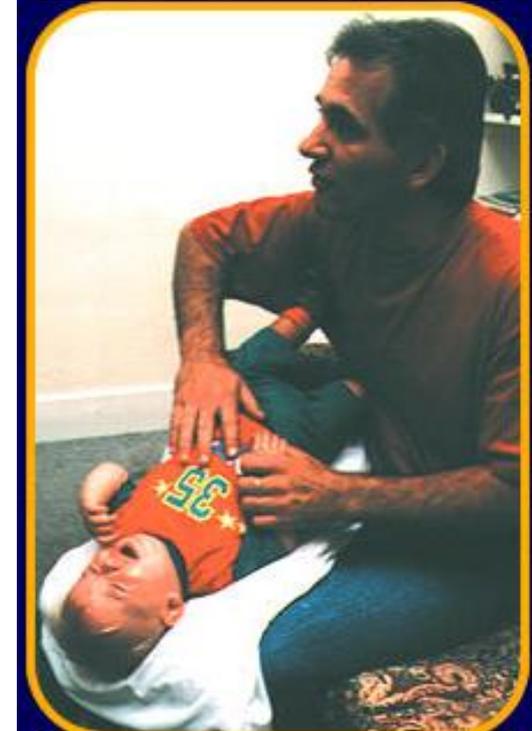
- **DIAGNOSI GENETICA:** analisi del DNA per la ricerca di mutazioni del gene CFTR
- **DIAGNOSI PRENATALE** (nel feto)
- **SCREENING NEONATALE:** dosaggio su una goccia di sangue dell' enzima pancreatico tripsina

La diagnosi precoce consente interventi precoci e quindi un migliore decorso della malattia

TERAPIA

La FC è considerata come “la più frequente malattia letale della popolazione caucasica”. La mediana di sopravvivenza nei pazienti FC è però aumentata, da pochi anni di mezzo secolo fa a più di 37 anni attualmente. Questo importante successo è dovuto a diversi fattori tra cui l’uso di nuove strategie terapeutiche

- **Aerosolterapia e fisioterapia quotidiana** (1-3 ore tutti i giorni)
- **Antibiotici** (anche a scopo profilattico) e **mucolitici**
- **Ossigenoterapia**
- Assunzione durante ogni pasto degli enzimi necessari alla digestione del cibo (**terapia sostitutiva della secrezione pancreatica**), con **insulina** in caso di diabete
- È sempre necessaria un’ **alimentazione ipercalorica** (3000 kcal), e somministrazione di vitamine A, D, K
- Trapianto polmonare o trapianti cuore-polmoni, trapianti di fegato, pancreas e fegato-pancreas



Patients with cystic fibrosis
need daily physiotherapy

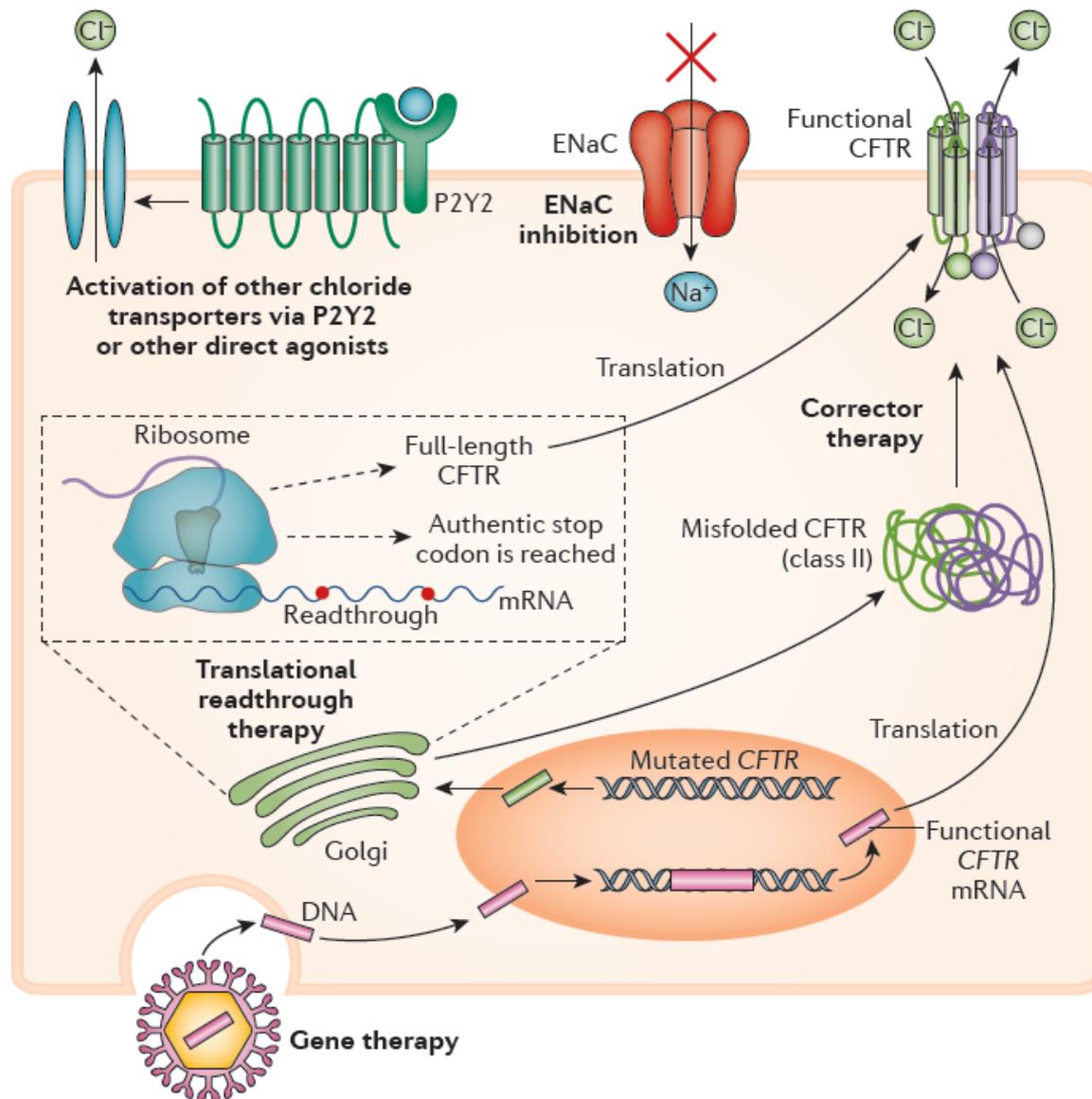


Figure 6 | **Emerging approaches to address the ion channel abnormalities in cystic fibrosis.** The main target for therapeutics is cystic fibrosis transmembrane conductance

For the Primer, visit doi:10.1038/nrpp.2015.10

➔ Cystic fibrosis is a disorder caused by mutations in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene, which encodes a transmembrane chloride and bicarbonate ion channel on the apical surface of glandular epithelial cells throughout the body. Although CFTR dysfunction affects many organs, lung disease is responsible for the vast majority of morbidity and mortality.

SCREENING

Cystic fibrosis is increasingly being diagnosed earlier in life because of the introduction of newborn screening in past 20 years. In 2010, over half of the patients with cystic fibrosis in the United States were diagnosed shortly after birth. Newborn screening offers the ability to manage lung health before symptoms develop.

DIAGNOSIS

Screen-positive newborns can be diagnosed by a sweat test; individuals with cystic fibrosis have more chloride in their sweat than unaffected individuals. Identifying lung disease relies on lung function measurements, imaging and bronchialveolar lavage, which is used to detect infection and inflammation. Genetic testing is an important part of modern diagnostics, because mutation-specific therapy is an increasing reality.



Rx MANAGEMENT



Novel strategies that directly target the CFTR channel abnormality are becoming available

Potentiator and corrector therapies are increasingly being used

OUTLOOK

Many modifier genes might be active in cystic fibrosis, influencing intracellular pathways or other ion channels. Understanding these functions

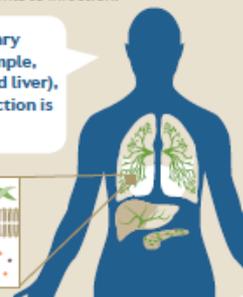
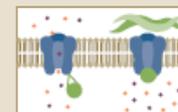
might help to predict the variability in responses to genotype-specific treatments, and to design better treatments. Indeed, finding therapeutic

strategies for the aspects of the disease beyond CFTR dysfunction will be important to maintain lung health in patients with cystic fibrosis.

MECHANISMS

CFTR mutations cause various molecular defects, including no production of functional protein, absent or diminished protein processing, defective ion gating or decreased ion conductance. In the lungs, CFTR dysfunction results in mucus accumulation that obstructs the airway lumen and diminishes mucociliary clearance. The lack of bicarbonate secretion leads to an acidic pH of the airway surface liquid in cystic fibrosis, which might contribute to defective bacterial killing — predisposing patients to infection.

In extrapulmonary organs (for example, the pancreas and liver), ductular obstruction is also observed



QUALITY OF LIFE

Cystic fibrosis is a multisystem disease that affects many organs, but over the past 20 years health outcomes and lifespan have improved dramatically with the introduction of long-term therapies. However, treatment complexity and perceived burden are concerns among patients, and might affect adherence to treatment. Modern trials now routinely use reliable and valid instruments to assess quality-of-life domains in cystic fibrosis.

! The presence of one CFTR allele that is at least partially active can vastly improve clinical outcome