

marzo 2015



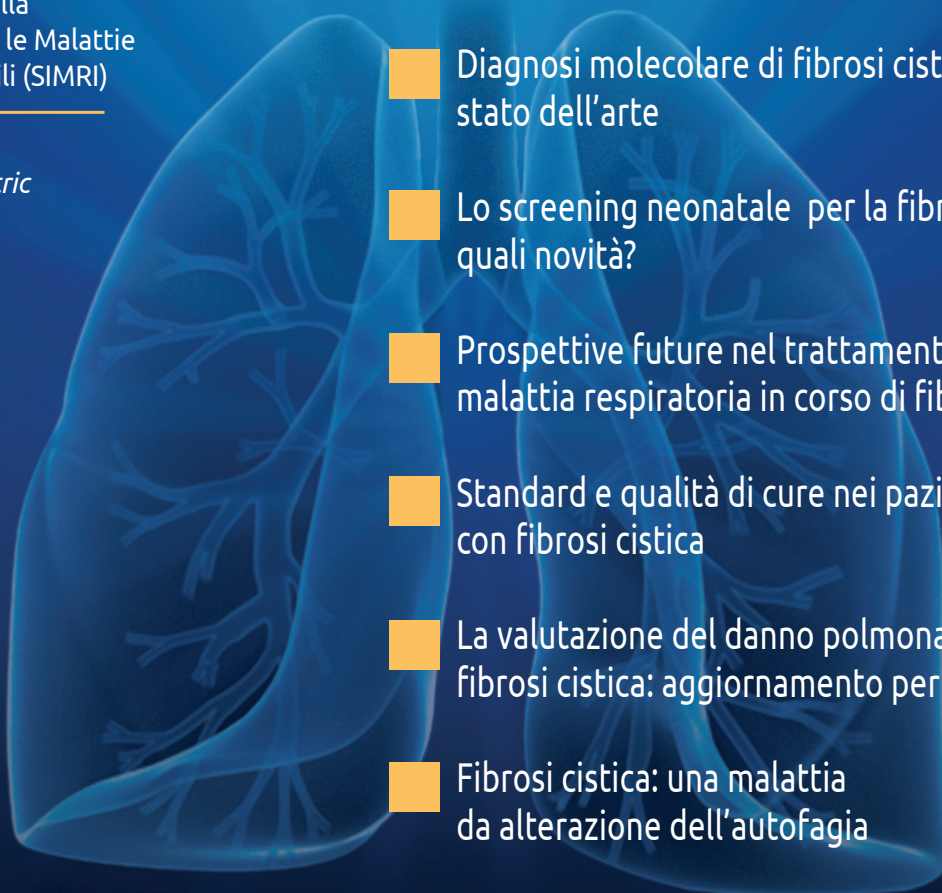
PNEUMOLOGIA PEDIATRICA

LA FIBROSI CISTICA

Organo ufficiale della
Società Italiana per le Malattie
Respiratorie Infantili (SIMRI)

*Official Journal
of the Italian Pediatric
Respiratory Society*

Volume 15 / n. 57
Rivista trimestrale
Spedizione in A.P.
art.2 comma 20/b
legge 662/96 Pisa
Reg. Trib. PI n.12
del 3 giugno 2002



- Diagnosi molecolare di fibrosi cistica: stato dell'arte
- Lo screening neonatale per la fibrosi cistica: quali novità?
- Prospettive future nel trattamento medico della malattia respiratoria in corso di fibrosi cistica
- Standard e qualità di cure nei pazienti con fibrosi cistica
- La valutazione del danno polmonare nella fibrosi cistica: aggiornamento per tutte le età
- Fibrosi cistica: una malattia da alterazione dell'autofagia

INDICE

Editoriale

View point

Francesca Santamaria

5

Diagnosi molecolare di fibrosi cistica: stato dell'arte

Molecular diagnosis of cystic fibrosis: state of the art

Paola Nardiello, Giuseppe Castaldo

6

Lo screening neonatale per la fibrosi cistica: quali novità?

Newborn screening for cystic fibrosis: what news?

Valeria Raia, Angela Sepe, Fabiola De Gregorio e Antonella Tosco

12

Prospettive future nel trattamento medico della malattia respiratoria in fibrosi cistica

Therapy for cystic fibrosis lung disease: current status and future perspectives

Valeria Galici, Cesare Braggion

17

Standard e qualità di cure nei pazienti con fibrosi cistica

Standards and quality of care in cystic fibrosis

Elisabetta Bignamini

24

Valutazione del danno polmonare nella fibrosi cistica: aggiornamento per tutte le età

Assessment of pulmonary impairment in cystic fibrosis from childhood to young adults

Giovanna Pisi, Valentina Fainardi

29

Fibrosi cistica: una malattia da alterazione dell'autofagia

Cystic fibrosis: a disease with defective autophagy

Luigi Maiuri, Daniela De Stefano

35

“Aria buona a scuola”: un'indagine pilota in Campania

“Good air at school”: a pilot study in Campania

Silvia Montella, Angela Orabona, Laida Lisa di Micco e Francesca Santamaria

41

Pneumologia Pediatria

Volume 15, n. 57 - Marzo 2015

Reg. Trib. PI n. 12 del 3 giugno 2002

Direttore Responsabile

Francesca Santamaria (Napoli)

Direzione Scientifica

Stefania La Grutta (Palermo)

Luigi Terracciano (Milano)

Segreteria Scientifica

Silvia Montella (Napoli)

Comitato Editoriale

Angelo Barbato (Padova)

Filippo Bernardi (Bologna)

Alfredo Boccaccino (Misurina)

Attilio L. Boner (Verona)

Mario Canciani (Udine)

Carlo Capristo (Napoli)

Fabio Cardinale (Bari)

Salvatore Cazzato (Bologna)

Renato Cutrera (Roma)

Fernando M. de Benedictis (Ancona)

Fulvio Esposito (Napoli)

Mario La Rosa (Catania)

Massimo Landi (Torino)

Gianluigi Marseglia (Pavia)

Fabio Midulla (Roma)

Luigi Nespoli (Varese)

Giorgio L. Piacentini (Verona)

Giovanni A. Rossi (Genova)

Giancarlo Tancredi (Roma)

Marcello Verini (Chieti)

Editore

Giannini Editore

Via Cisterna dell'Olio 6b

80134 Napoli

e-mail: editore@gianninispia.it

www.giannineditore.it

Coordinamento Editoriale

Center Comunicazioni e Congressi Srl

e-mail: info@centercongressi.com

Napoli

Realizzazione Editoriale e Stampa

Officine Grafiche F. Giannini & Figli SpA

Napoli

© Copyright 2015 by SIMRI

Finito di stampare nel mese di marzo 2015

Valeria Galici, Cesare Braggion
CRR Toscano per la Fibrosi Cistica,
AOU Meyer, Firenze

Referente: Dr.ssa Valeria Galici
Centro Regionale Toscano di Riferimento
per la Fibrosi Cistica, AOU A. Meyer, Firenze
email: v.galici@meyer.it

PROSPETTIVE FUTURE NEL TRATTAMENTO MEDICO DELLA MALATTIA RESPIRATORIA IN FIBROSI CISTICA

Therapy for cystic fibrosis lung disease: current status and future perspectives

Riassunto La scoperta della possibilità di cura del difetto di base in fibrosi cistica (FC) ha portato al fiorire di numerosi studi volti alla progettazione e alla valutazione di molecole capaci di far funzionare la proteina CFTR difettosa, avendo come bersaglio i diversi difetti associati alle diverse mutazioni del gene CFTR. I farmaci che al momento si stanno rivelando più promettenti sono i potenziatori della CFTR, come Kalydeco. Tale farmaco ha dimostrato efficacia in mutazioni del gene CFTR in cui la proteina è localizzata sulla membrana cellulare, ma non funzionante per un difetto di “gating”.

I ricercatori si stanno impegnando anche alla realizzazione di farmaci correttori, che combinati ai potenziatori possano agire su mutazioni più complesse, ma che riguardano un numero maggiore di pazienti con FC (ad es. F508del). Parallelamente a questa ricerca innovativa, continuano gli studi rivolti a bersagli sintomatici, quali l’infiammazione e l’infezione polmonare. Essendo ancora lunga la strada verso la messa a punto di nuovi antibiotici, è attivo lo sforzo delle case farmaceutiche nel fornire nuovi dispositivi per rendere più semplice e facilmente gestibile la somministrazione degli antibiotici per via inalatoria, migliorando l’aderenza terapeutica dei pazienti.

Parole chiave: modulatori, correttori, CFTR, terapia genica

Key words: CFTR modulator; CFTR potentiator; gene therapy

Negli ultimi anni l’interesse della ricerca di base e clinica nell’ambito della fibrosi cistica (FC) si sta sempre più orientando verso soluzioni terapeutiche innovative volte alla correzione del difetto di base della patologia. Sono stati ottenuti risultati buoni e promettenti per alcune mutazioni della proteina *Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator*. Parallelamente a questo filone di ricerca, continuano anche gli studi volti alla cura degli aspetti centrali della malattia (terapia dell’infiammazione e dell’infezione polmonare) e l’attenzione delle case farmaceutiche nel fornire dispositivi che consentano un uso più semplice e rapido di farmaci già disponibili, per ottimizzarne l’efficacia e l’aderenza terapeutica.

FARMACI MODULATORI DELLA PROTEINA CFTR

Per comprendere la modalità con cui la ricerca si sta muovendo nella progettazione e realizzazione di farmaci capaci di far funzionare la proteina di membrana CFTR, alterata nei pazienti con FC, è necessario richiamare brevemente la classificazione delle mutazioni per comprenderne i possibili bersagli terapeutici.

E’ risaputo infatti che a mutazioni genetiche diverse corrispondono difetti diversi della protei-

na CFTR.

A tutt’oggi si conoscono più di 1900 mutazioni del gene CFTR, anche se non di tutte è stata riconosciuta l’implicazione funzionale. La mutazione più frequentemente rilevata nel Nord Europa e Nord America è una delezione di tre paia di basi (CTT) nell’esone 10, che corrisponde alla perdita di un residuo di fenilalanina in posizione 508 (F508del). Tale difetto in Italia rappresenta circa il 50% degli alleli, mentre la distribuzione delle altre mutazioni varia da regione a regione.

Le mutazioni FC sono state suddivise in cinque classi, sulla base del difetto che provocano nel processo di sintesi della proteina CFTR, che è una proteina-canale dello ione cloro, localizzata sulla superficie cellulare di molti epitelii (Figura 1):

- **classe I – difetto di sintesi:** causano la totale assenza di sintesi della proteina per alterazioni dello *splicing* o mutazioni *frameshift* e nonsense, che portano, rispettivamente, a instabilità dell’mRNA e interruzione prematura della catena polipeptidica nascente;
- **classe II – difetto di maturazione:** la proteina CFTR viene sintetizzata, ma non raggiunge la membrana cellulare perché la mutazione determina un’anomala conformazione spaziale e successiva degradazione. L’esem-

pio principale è la mutazione F508del;

- **classe III – difetto di attivazione e disattivazione:** la proteina-canale CFTR in questo caso viene sintetizzata e correttamente localizzata, ma non viene attivata o regolata; il canale ha un difetto di apertura (“gating”);
- **classe IV – difetto di conduttanza:** le mutazioni missenso (sostituzione di un amminoacido) cadono nelle regioni trans-membrana, essenziali per il trasporto dello ione cloro, causando quindi una diminuita conduttanza allo ione;
- **classe V – ridotta sintesi:** la mutazione causa instabilità dell’mRNA rallentando la trascrizione genica o creando siti di *splicing* alternativi, causando una sintesi di proteina normale ma fortemente ridotta in quantità.

Nella cellula normale, la proteina CFTR è espressa a livello della superficie cellulare dove funziona come canale per il trasporto del cloro verso l’esterno.

La proteina regola inoltre il canale del sodio ed ha probabilmente anche altre funzioni.

La secrezione di cloro ed il riassorbimento di sodio comportano un passaggio di acqua verso l’esterno e quindi una condizione di adeguata idratazione delle secrezioni a livello dei vari organi: in particolare a livello bronchiale tale condizione favorisce il movimento delle “cilia” e quindi l’eliminazione del muco bronchiale (*clearance* muco-ciliare) e così degli agenti estranei inalati

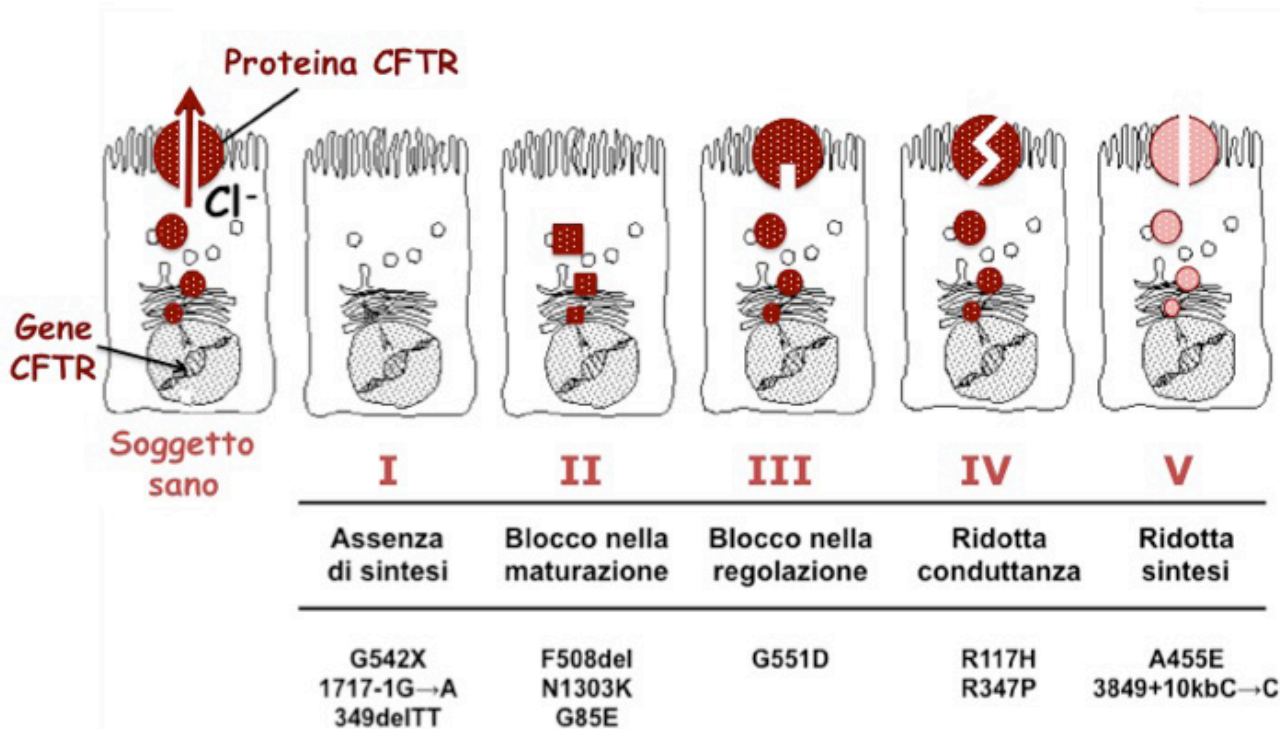
(inquinanti, batteri, etc.). Il mancato funzionamento di questo meccanismo nei pazienti FC è responsabile dell’instaurarsi del circolo vizioso infezione-infiammazione e quindi dei sintomi della malattia polmonare.

La localizzazione della proteina-canale ha determinato il tipo di approccio farmacologico scelto per la sua correzione; se la proteina si localizza nella sua sede abituale (superficie cellulare) il trattamento farmacologico della stessa è facilitato: infatti, nel caso delle mutazioni di questa tipologia (classe III, IV e forse V) vengono studiati farmaci “potenziatori” con lo scopo di ripristinare e appunto potenziare il funzionamento della proteina mutata. Più difficoltoso invece il trattamento farmacologico del difetto nelle prime due classi di mutazioni, dove la proteina CFTR non arriva all’apice cellulare; in tale circostanza ai farmaci “potenziatori”, che stimolino l’attività della proteina, occorre combinare farmaci che facilitino la sintesi o il percorso della proteina fino alla sede appropriata.

Per giungere alla definizione di molecole utili alla correzione o al potenziamento della CFTR, i ricercatori di base hanno messo a punto il sistema dello “screening ad alta efficienza”.

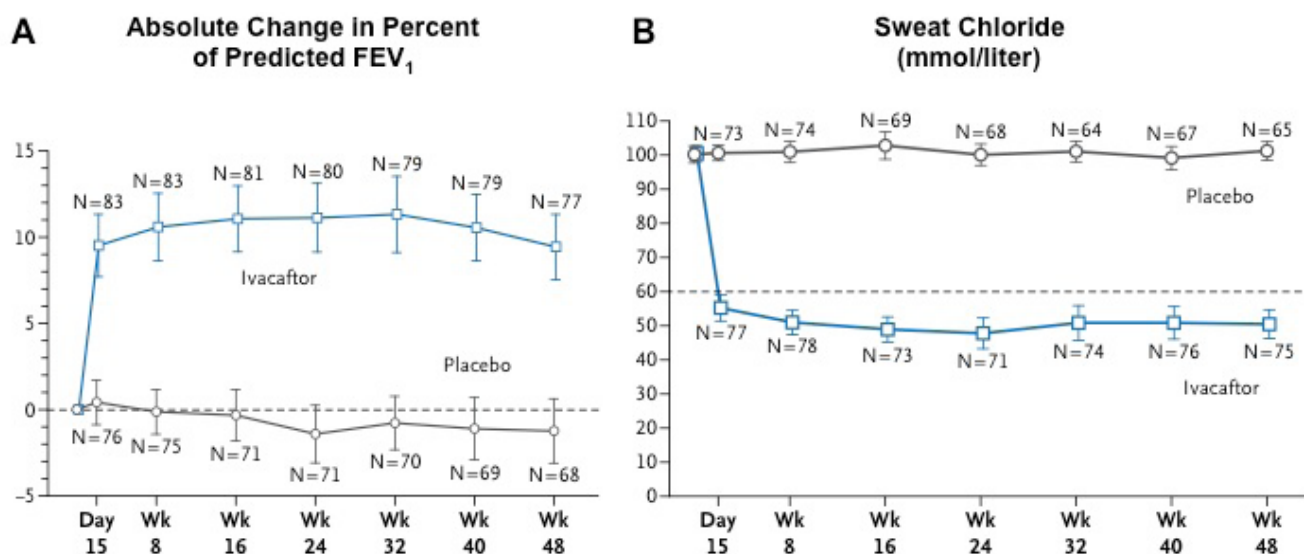
Tale metodica automatizzata ha il compito di saggiare una vasta libreria di farmaci su cellule con specifico difetto della CFTR. Tra i farmaci testati, quelli che si dimostrano più promettenti vengono caratterizzati e perfezionati per l’uso

Fig. 1 Sono illustrate le cinque classi di mutazioni del gene CFTR ed il diverso difetto che esse generano nella proteina-canale CFTR. Nel caso delle mutazioni di classe I e II non c’è proteina CFTR sulla superficie cellulare; nel caso delle mutazioni di classe III, IV e V la proteina CFTR è localizzata nella sede adeguata, ma non è funzionante per ragioni diverse.



Adapted from Cystic Fibrosis Mutation Data Base: <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>

Fig. 2 Sono illustrate in A le variazioni di FEV₁ nei pazienti trattati con Ivacaftor rispetto ai pazienti trattati con placebo; in B è possibile osservare le variazioni di cloro sudorale. Lo studio ha arruolato 161 soggetti con fibrosi cistica e mutazione G551D di età superiore ai 12 anni. Il potenziatore Ivacaftor è stato somministrato per os per un anno (3).



nell'uomo e, in seguito, avviati a studi *in vitro* e/o nell'animale di laboratorio per testarne efficacia e sicurezza; terminato tale processo, le molecole vengono avviate a studi clinici di fase II e III nel soggetto malato.

I primi studi hanno portato alla scoperta del potenziatore VX 770 – Ivacaftor (Kalydeco), che ha dimostrato, prima negli studi *in vitro* e poi negli studi clinici, di garantire una buona efficacia in pazienti con almeno una mutazione di classe III (es. la mutazione G551D) e di essere discretamente tollerato dagli stessi. I primi studi su Ivacaftor sono stati condotti *in vitro* su cellule bronchiali umane con la mutazione G551D, dimostrando che il farmaco aumentava la durata di apertura della proteina-canale e perciò la secrezione del cloro di circa il 50% rispetto alle cellule normali. Inoltre VX-770, pur non avendo effetto diretto sul canale del sodio, ma agendo su CFTR, riduceva il riassorbimento di sodio. L'effetto combinato sul trasporto di cloro e di sodio produceva un aumento del volume di liquido periciliare sulla superficie delle cellule con mutazione G551D di circa il 50%, normalizzando il battito ciliare (1-2). In seguito a queste premesse sperimentali si è passati a valutare efficacia e sicurezza di VX-770 in pazienti con FC e mutazione G551D.

Uno studio di fase III ha valutato l'efficacia e la sicurezza del farmaco (150 mg per bocca due volte al dì), somministrato per 1 anno, rispetto al placebo in circa 161 pazienti, nei quali una delle due mutazioni era la G551D (3). Come illustrato nella Figura 2, l'assunzione del farmaco si associava ad un aumento in valore assoluto del FEV₁, espresso in percentuale rispetto al predetto, di 10,5 punti e ad una riduzione dei valori di

cloro sudorale di circa 50 mmol/L (3).

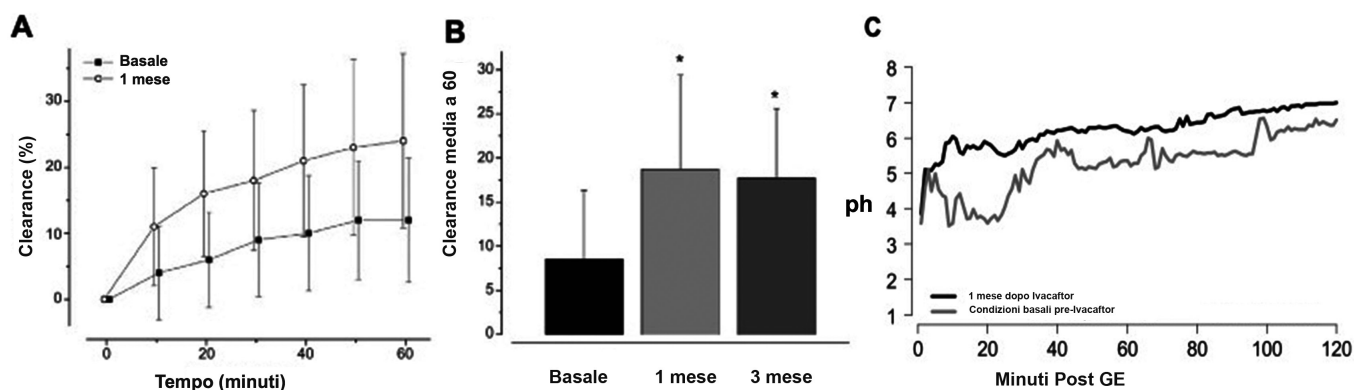
Questi effetti si mantenevano nel tempo e si associavano ad una riduzione del 55% delle riacutizzazioni respiratorie e ad un miglioramento dei sintomi respiratori.

Tali risultati, rilevanti anche da un punto di vista clinico, hanno portato alla commercializzazione del farmaco per questa mutazione, molto rara in Italia, mentre negli USA interessa il 4-5% dei soggetti affetti da FC.

Lo studio GOAL ha valutato i meccanismi alla base di questi buoni risultati ottenuti con l'Ivacaftor: la riduzione del valore di cloro sudorale (riduzione media di 48.1 mmol/L) corrispondeva ad un effettivo miglioramento di attività del canale CFTR (4).

L'aumento statisticamente significativo della clearance mucociliare rendeva ragione del miglioramento della funzione polmonare e le variazioni del pH intestinale, dovute ad aumento del flusso di ioni bicarbonato nella secrezione pancreatico, rendevano ragione del miglioramento dell'utilizzo degli enzimi pancreatici e quindi di un incremento medio di 2.7 kg di peso rispetto al placebo (Figura 3). Gli stessi risultati clinici sono stati dimostrati anche in soggetti di età compresa tra i 6 e gli 11 anni con FC ed una mutazione G551D (5). Dati preliminari, presentati al Congresso Nord Americano del 2014, hanno mostrato che anche l'elastasi fecale, un indice di funzione secretiva enzimatica pancreatico, poteva aumentare, almeno in una percentuale di bambini di età compresa tra i 2 e 5 anni, con FC ed una mutazione G551D. Altri dati preliminari hanno evidenziato che l'effetto di Ivacaftor sulla funzione polmonare si mantiene fino a 3 anni (6).

Fig. 3 Lo studio GOAL è stato condotto in soggetti con la mutazione di classe III G551D. E' illustrato in A il guadagno nella clearance mucociliare, valutata con radioisotopi durante 60 minuti, dopo un mese di terapia con Ivacaftor. In B si possono osservare le variazioni medie (1 DS) di clearance mucociliare, 60 minuti dopo l'inalazione di Tc99m-SC, dopo 1 e 3 mesi di terapia con Ivacaftor, rispetto al valore basale ($p < 0.001$ rispetto al valore basale). In C si può osservare l'aumento del pH nel piccolo intestino in rapporto alla terapia con Ivacaftor per 1 mese: sono indicate le variazioni di pH, misurato ogni minuto, dopo lo svuotamento gastrico (GE).



Risultati positivi con Ivacaftor, paragonabili a quelli ottenuti con la mutazione G551D, sono stati confermati anche in soggetti con altre mutazioni di "gating" della classe III (7-8).

Queste ultime sono più frequenti in Italia rispetto alla mutazione G551D, interessando peraltro non più di 150 soggetti.

Conosciamo risultati preliminari e da confermare dell'uso di Ivacaftor nei soggetti con la mutazione R117H, una mutazione di classe IV, ed in soggetti con mutazioni caratterizzate da una funzione residua della proteina CFTR. Quest'ultima condizione potrebbe interessare i soggetti che mantengono sufficienza pancreatica e quelli con una mutazione missenso, per i quali *in vitro* è stato dimostrato un effetto di Ivacaftor. I risultati ottenuti in tutti questi casi sono peraltro molto variabili e di minor impatto clinico rispetto a quelli ottenuti con Ivacaftor nelle mutazioni di classe III.

L'Agenzia Europea per i Medicinali (EMA) ha approvato il 31.07.2014 l'uso e la commercializzazione di Kalydeco per pazienti FC di età maggiore di 6 anni che abbiano nel loro genotipo almeno una delle mutazioni del gene CFTR con difetto di "gating" (G551D, G178R, S549N, S549R, G551S, G1244E, S1251N, S1255P, G1349D).

L'altra opzione terapeutica, cui guarda attualmente la comunità scientifica con grande interesse, partendo dai risultati incoraggianti di Ivacaftor, consiste nel risolvere il problema delle mutazioni di classe I e II, nel caso delle quali serve, oltre ad un farmaco potenziatore della CFTR, un farmaco "correttore" che faccia arrivare la proteina sulla superficie cellulare.

Attualmente i maggiori sforzi in quest'ambito si stanno concentrando sulla mutazione F508del, che interessa nel mondo l'80-90% delle persone FC e circa il 50% in Italia.

In presenza di questa mutazione, la proteina presenta delle anomalie di conformazione; viene perciò eliminata dai sistemi di controllo cellulari ed arriva in minima quota ($\approx 5\%$) sulla superficie cellulare.

Per questo tipo di difetto sono stati valutati diversi farmaci "correttori", come il VX-809 (Lumacaftor) ed il VX-661. Quest'ultimo correttore avrebbe un'emivita più lunga del VX-809, una migliore tollerabilità e minori interferenze con Ivacaftor. Negli studi *in vitro* sulle cellule bronchiali dei soggetti omozigoti per la mutazione F508del, l'uso combinato del "correttore" VX-809 e del "potenziatore" Ivacaftor ha consentito di aumentare la funzione della proteina CFTR fino al 25% del normale; l'effetto additivo di VX-809 e VX-770 risultava evidente anche per l'incremento del 50% dello spessore del liquido periciliare sulla superficie cellulare (9).

Sono state quindi studiate le dosi più efficaci dei due farmaci in studi di fase II, con i quali è stata anche rilevata una modesta riduzione del cloro sudorale (6-8 mmol/L in media) ma un incremento, rispetto al placebo, del FEV₁ % predetto di circa 6 punti, rispetto al valore basale (10).

Tali risultati hanno dato avvio a due studi internazionali di fase III, che hanno arruolato complessivamente 1000 soggetti circa, omozigoti per la mutazione F508del i risultati preliminari di questi studi hanno dimostrato un aumento medio del FEV₁ % predetto di circa 3 punti in 6 mesi una riduzione significativa del numero di riacutizzazioni delle ospedalizzazioni e un incremento del peso.

Tali risultati sembrano indicare che anche nel caso della mutazione F508del; si può ottenere una correzione del difetto della proteina CFTR, ma che la correzione, al momento, non è sufficientemente "robusta" dal punto di vista clinico

rispetto a quanto ottenuto per le mutazioni di classe III.

Gli studi finora condotti a termine dimostrano quanto sia complesso correggere i difetti di cui è responsabile la mutazione F508del ed hanno fornito conferme sulla necessità di intervenire nel recupero del difetto con almeno due correttori capaci di interagire su passaggi diversi del processo di maturazione di CFTR. La proteina CFTR è composta da 5 domini: 3 presenti nel citoplasma (NBD1, NBD2 e R Domain) e due che attraversano la membrana apicale (TMD1 e TMD2), che si interfacciano tra loro attraverso filamenti. Il difetto indotto dalla mutazione F508del (la mancanza dell'aminoacido fenilalanina in posizione 508 nel dominio NBD1) compromette la conformazione e la maturazione di NBD1 e la stabilità dell'intera proteina, agendo per questo a livello dell'interfaccia tra NBD1 e TMD1. Pertanto diversi dovrebbero essere i bersagli da colpire con distinti correttori (11).

Gli obiettivi cui è rivolta la ricerca al momento attuale sono: la valutazione di tipologie di correttori diversi e più potenti; la combinazione di almeno due correttori con un potenziatore; la possibilità di interferire sui meccanismi di demolizione della proteina CFTR malconformata e perciò sul proteosoma per consentire ad una quota maggiore di proteina di arrivare sulla superficie cellulare.

Anche le mutazioni di classe I (mutazioni stop o missense) sono abbastanza frequenti in Italia (circa il 10% dei pazienti). In tali casi l'RNA-messaggero contiene dei segnali di "stop", che interrompono la sintesi a livello ribosomiale della proteina prima del dovuto, risultandone una proteina troncata e perciò eliminata. Gli studi *in vitro* hanno mostrato che l'antibiotico gentamicina, della classe degli aminoglicosidi, ed un farmaco come l'Ataluren (PTC124) sono in grado di far procedere la sintesi della proteina oltre i segnali di "stop" in modo che venga prodotta una proteina normale (12). Studi preliminari di fase II con Ataluren hanno mostrato una correzione del segnale elettrico della mucosa nasale in circa la metà dei soggetti con queste mutazioni (13-15). Recentemente è stato pubblicato lo studio di fase III con questo farmaco: sono stati arruolati 238 pazienti, di cui 120 hanno fatto terapia con Ataluren, 118 hanno assunto il placebo. Dopo 48 settimane di trattamento non sono state osservate differenze significative del FEV₁ tra i due gruppi; anche il numero delle esacerbazioni polmonari non variava tra i due gruppi (16). Analizzando però i dati per sottogruppi, è stato mostrato che i pazienti trattati con Ataluren ma che non assumevano tobramicina per via aerosolica avevano risultati migliori rispetto a quelli trattati con placebo: il FEV₁ mostrava un miglioramento medio del 5,7% rispetto al valore basale, a confronto del placebo; le esacerba-

zioni respiratorie erano 1,3 rispetto a 2,15 (16). Per questa ragione l'azienda produttrice dell'Ataluren sta predisponendo una ricerca di fase III per la quale verranno arruolati soggetti con mutazioni stop (nonsense) che non abbiano in terapia tobramicina per via inalatoria. Nel frattempo sono state proposte nuove e forse più efficaci molecole per il trattamento di queste mutazioni, principalmente basate su nuovi aminoglicosidi sintetici.

Di interesse anche una proposta venuta da ricercatori Israeliani sulla correzione di alcuni difetti di *splicing*; questi ricercatori hanno lavorato sulla mutazione 3849+10kbC>T con l'uso di nucleotidi antisense.

In sintesi, al momento, si può concludere che disponiamo realmente di un farmaco incisivo sulla proteina difettosa solo per le mutazioni di classe III. Per le altre mutazioni alcuni passi preliminari importanti sono stati già fatti con gli studi *in vitro* e l'avvio di studi clinici anche di fase III.

Gli studi attuali sono volti soprattutto alla ricerca di nuovi farmaci correttori e alla loro combinazione; tali farmaci debbono peraltro superare i diversi step della ricerca sperimentale e clinica prima di poter essere impiegati sul malato.

Spunti innovativi sono stati portati anche in tema di terapia di riparazione genico-cellulare: cellule staminali pluripotenti indotte, che vengono trattate *in vitro* con gene CFTR normale e poi indirizzate a differenziarsi in cellule respiratorie per la riparazione di tessuti polmonari danneggiati. Per realizzare tali approcci e la terapia genica vera e propria occorre un trasportatore o vettore; in generale i vettori più efficienti si sono rivelati alcuni virus, resi innocui, ma si è lavorato anche con vettori non virali (particelle inalate per aerosol) (17-19).

FARMACI CONVENZIONALI "SINTOMATICI"

Un altro importante tema in corso di approfondimento scientifico è quello del ruolo dell'infiammazione polmonare in fibrosi cistica e delle eventuali terapie per la gestione della stessa, oltre a studi sulla combinazione di effetto di farmaci con attività antiinfiammatoria e di ripristino della funzione CFTR. Oltre alla terapia antiinfiammatoria non steroidea (ibuprofene) e alla terapia con azitromicina (macrolide con elevata attività antiinfiammatoria) sono in corso numerosi trials sull'utilizzo di un inibitore di leucoproteasi secretoria ricombinante (alfa-1 antitripsina), che neutralizza l'effetto dell'elastasi liberata dai neutrofili nel secreto bronchiale (20).

L'annosa questione dell'efficacia della somministrazione aerosolica di glutatione nei pazienti FC, allo scopo di proteggere il polmone dei malati dall'effetto ossidante, è stato chiarito da uno

studio clinico randomizzato e controllato con placebo pubblicato nel 2013 (21). Tale studio non ha dimostrato miglioramenti importanti della funzionalità polmonare e del rischio di ricattizzazioni nei pazienti FC rispetto al placebo. Non sono stati riportati miglioramenti nella qualità di vita dei pazienti; inoltre il trattamento non ha modificato lo stato ossidativo, né il bilancio proteolitico e infiammatorio dell'essudato.

Tab. 1 Sono riportati gli studi placebo-controllati e di comparazione che hanno portato alla commercializzazione di tobramicina, colistina ed aztreonam lisina somministrati per via inalatoria per il trattamento dell'infezione polmonare cronica da *Pseudomonas aeruginosa*. Un ciclo di terapia ha una durata di 28 giorni; nel caso di più cicli, questi sono intervallati da periodi di 28 giorni senza terapia (on-off). La colimicina è stata invece somministrata continuamente per tre mesi.

	Non Inferiorità	Superiorità	
		Studi controllati con placebo	Studi in aperto, randomizzati, di comparazione di efficacia
Tobramicina in soluzione (TIS)	3 cicli	-	-
Tobramicina in polvere (TIP)	1 ciclo	TIS	-
Colimicina in soluzione (CS)	3 mesi	TIS	-
Colicistina in polvere (CP)	-	TIS	-
Aztreonam lisina (AZLKI)	1 ciclo	-	TIS

Questo studio ha quindi confutato l'ipotesi che il glutatione, ai dosaggi impiegati, possa rappresentare un approccio terapeutico utile nei pazienti FC.

In merito a terapie considerate più tradizionali per la gestione dell'infezione cronica da *Pseudomonas aeruginosa* dei pazienti FC, un tema ancora "caldo" è quello degli antibiotici per via inalatoria; le case farmaceutiche si sono rivolte al miglioramento dell'aderenza terapeutica dei pazienti FC, con l'utilizzo di nuovi dispositivi per la somministrazione degli stessi.

La Tabella 1 mostra gli studi controllati con placebo e comparativi, che hanno portato all'approvazione e alla commercializzazione di tobramicina, colistina ed aztreonam lisina per via inalatoria (20, 22, 23). La tobramicina è il farmaco, che presenta più studi clinici indirizzati a dimostrarne l'efficacia e la sicurezza. Si stanno completando gli studi clinici per l'utilizzo anche della Levofloxacin, della Vancomicina in soluzione e dell'Amikacina liposolubile (23).

Gli antibiotici per via inalatoria rappresentano un caposaldo anche per la terapia eradicante di *Pseudomonas aeruginosa*, che avviata anche in assenza di sintomi ha lo scopo di ritardare l'infezione cronica, caratterizzata dalla trasformazione fenotipica del batterio e perciò dalla formazione di "biofilm" non aggredibile dagli antibatterici e dai neutrofili (23).

La terapia della pneumopatia comprende anche farmaci per via inalatoria mirati alla mucolisi. L'RhdNase, che riduce la viscosità del muco bronchiale demolendo le molecole di DNA, è stato valutato in numerosi studi clinici; L'ipertonica salina, a concentrazioni pari al 7%, ha la finalità invece di aumentare, per effetto osmotico, la componente idrica del muco bronchiale (20).

L'ottimizzazione della terapia con tutti questi farmaci "sintomatici" ha contribuito al miglioramento della sopravvivenza registrato negli ultimi due decenni.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- (1) Van Goor F, Hadida S, Grootenhuis PD, et al. *Rescue of CF airway epithelial cell function in vitro by a CFTR potentiator, VX-770*. PNAS 2009; 44: 18825-18830.
- (2) Accurso FJ, Rowe SM, Clancy JP, et al. *Effect of VX-770 in persons with cystic fibrosis and the G551D-CFTR mutation*. N Engl J Med 2010; 363:1991-2003.
- (3) Ramsey BW, Davies J, McElvaney NG, et al. *A CFTR potentiator in patients with cystic fibrosis and the G551D mutation*. N Engl J Med 2011; 365:1663-1672.
- (4) Rowe SM, Heltshe SL, Gonska T, et al. *Clinical mechanism of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator potentiator ivacaftor in G551D-mediated cystic fibrosis (GOAL)*. Am J Respir Crit Care Med 2014;190:175-184.
- (5) Davies JC, Wainwright CE, Canny GJ, et al. *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; 187:1219-1225.
- (6) McKone E, Borowitz D, Drevinek P, et al. *Long-term safety and efficacy of ivacaftor in patients with cystic fibrosis who have the G551D-CFTR mutation: response through 144 weeks of treatment (96 weeks of Persist)*. Nord American Cystic Fibrosis Conference 2013. Pediatr Pulmonol 2013; 48 S287 (Abs 227).
- (7) Yu H, Burton B, Huang CJ, et al. *Ivacaftor potentiation of multiple CFTR channels with gating mutations*. J Cyst Fibros 2012; 11: 237-245.
- (8) De Boeck K, Munck A, Walker S, et al. *Efficacy and safety of ivacaftor in patients with cystic fibrosis and a non-G551D gating mutation*. J Cyst Fibros 2014; 13:674-680.
- (9) Van Goor F, Hadida S, Grootenhuis PD, et al. *Correction of the F508del-CFTR protein processing defect in vitro by the investigational drug VX-809*. PNAS 2011; 108:18843-18848.
- (10) Boyle MP, Bell S, Konstan M, et al. *The investigational CFTR corrector, VX-809 (lumacaftor) co-administered with the oral potentiator ivacaftor improved CFTR and lung function in F508del homozygous patients: phase II study results*. Nord American Cystic Fibrosis Conference 2012. Pediatr Pulmonol 2012; 47: S315 (Abs 260).
- (11) Okiyoneda T, Veit G, Dekkers JK, et al. *Mechanism-based corrector combination restores DF508-CFTR folding and function*. Nature Chem Biol 2013; 9: 444-454.
- (12) Ming D, Liu X, Welch EM, et al. *PTC124 is an orally bioavailable compound that promotes suppression of the human CFTR-G542X nonsense allele in a CF mouse model*. PNAS 2008; 105:2064-2069.
- (13) Kerem E, Hirawat S, Armoni S, et al. *Effectiveness of PTC124 treatment of cystic fibrosis caused by nonsense mutations: a prospective phase II trial*. Lancet 2008; 372:719-727.
- (14) Sermet-Gaudelus I, De Boeck K, Casimir GJ, et al. *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; 182:1262-1272.
- (15) Wilschanski M, Miller LL, Shoseyov D, et al. *Chronic ataluren (PTC124) treatment of nonsense mutation cystic fibrosis*. Eur Respir J 2011; 38: 59-69.
- (16) Kerem E, Konstan MW, De Boeck K, et al. *Ataluren for the treatment of nonsense-mutation cystic fibrosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial*. Lancet Respir Med 2014; 2: 539-547.
- (17) Nathwani AC, Tuddenham EG, Rangarajan S, et al. *Adenovirus-associated virus vector-mediated gene transfer in hemophilia B*. N Engl J Med 2011; 365: 2357-2365.
- (18) Hyde SC, Gill DR, Higgins CF, et al. *Correction of the ion transport defect in cystic fibrosis transgenic mice by gene therapy*. Nature 1993; 362, 250-255.
- (19) Burney TJ, Davies JC, *Gene therapy for the treatment of cystic fibrosis*. Appl Clin Genet 2012; 5: 29-36.
- (20) Mogayzel PJ, Naureckas ET, Robinson KA, et al. *Cystic fibrosis pulmonary guidelines. Chronic medications for maintenance of lung health*. Am J Respir Crit Care Med 2013; 187: 680-689.
- (21) Griese M, Kappler M, Eisman C, et al. *Inhalation treatment with glutathione in patients with cystic fibrosis: a randomized clinical trial*. Am J Respir Crit Care Med 2013; 188: 83-89.
- (22) Ryan G, Singh M, Dwan K. *Inhaled antibiotics for long-term therapy in cystic fibrosis (Review)*. Cochrane Database of Systemic Reviews 2011, Issue 3. Art. No.: CD001021.
- (23) Doering G, Flume P, Heijerman H, et al. for the Consensus Study Group. *Treatment of lung infection in patients with cystic fibrosis: current and future strategies*. J Cyst Fibros 2012; 11: 461-479.