



# Congress Reports

Notizie da congressi, simposi, workshop, meeting e convegni medico-scientifici

Anno XVIII - n. 2/2013 · Reg. del Trib. di Roma n. 544 dell'8/11/1996 · Poste Italiane S.p.A. - Spedizione in A.P. 70% - Roma

Direttore Responsabile: Antonio Guastella · Periodicità bimestrale · ©2013 Mediprint S.r.l. a socio unico · Cod. 11/13

Via Cossignano, 26-28 - 00138 Roma - tel. 06.8845351/2 - fax 06.8845354 · mediprint@mediprint.it · www.mediprint.it

Stampa: CSC Grafica Srl - Via A. Meucci, 28 - 00012 Guidonia (RM) · Finito di stampare nel mese di giugno 2013

## Focus sull'inflammazione nella Fibrosi Cistica

Hotel Royal Continental - Napoli 2 Marzo 2013



# Indice

<b>Terapie innovative per l'inflammatione polmonare nella Fibrosi Cistica: strategie e prospettive</b>	<b>3</b>
<i>G. Cabrini</i>	
<b>Modulazione dell'autofagia come strategia alternativa per il controllo dell'inflammatione polmonare nella Fibrosi Cistica</b>	<b>6</b>
<i>L. Maiuri, V. Raia</i>	
<b>Azioni farmacodinamiche del glutathione ridotto e suo ruolo nella Fibrosi Cistica</b>	<b>9</b>
<i>G. De Luca</i>	
<b>Glutathione ridotto per via inalatoria (GSH) vs placebo nella Fibrosi Cistica: valutazione dello studio clinico</b>	<b>12</b>
<i>V. Raia, V. Carnovale</i>	
<b>Immunità innata: una gara continua tra geni e ambiente</b>	<b>15</b>
<i>G. Castaldo</i>	
<b>Verso una partecipazione attiva del paziente con Fibrosi Cistica</b>	<b>18</b>
<i>F. Berti</i>	

# Terapie innovative per l'inflammatione polmonare nella Fibrosi Cistica: strategie e prospettive

G. Cabrini

Laboratorio di Patologia Molecolare, Dipartimento di Patologia e Diagnostica, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata-Verona

Nel corso degli anni sono emersi numerosi dati a sostegno della presenza di un'inflammatione costitutiva, cioè di un'inflammatione "sterile", precedente all'infezione batterica, nei polmoni dei pazienti affetti da Fibrosi Cistica (FC). Diversi studi hanno dimostrato l'aumento di marker d'inflammatione nel fluido di lavaggio broncoalveolare di bambini affetti da FC e l'esistenza di uno stretto rapporto tra la proteina "misfolded" e i segnali di stress intracellulare e tra difetto della CFTR e metabolismo degli sfingolipidi. Anche se al momento non esiste un consenso definitivo sulla presenza di un'inflammatione polmonare precedente l'infezione nei pazienti con FC, questa serie di dati depone sostanzialmente a favore dell'importanza di una terapia antinfiammatoria, che affianchi le nuove strategie terapeutiche mirate a correggere la proteina CFTR mutata e a potenziarne la sua capacità di trasportatore del cloro; in ogni

caso, prima o poi, i pazienti con FC sviluppano comunque un'infezione batterica, che provoca una serie di danni a livello polmonare (Fig. 1) (1).

L'epitelio bronchiale è un forte produttore di citochine proinfiammatorie e chemiotattiche, che richiamano una gran quantità di leucociti polimorfonucleati (PMN) nel lume polmonare. La presenza di una gran quantità di PMN, se inefficace nell'eradicare l'infezione batterica, produce una cascata di eventi amplificatori del processo infiammatorio, come il rilascio di DNA attraverso i *neutrophil extracellular traps* o per apoptosi dei PMN.

Il rilascio di DNA aumenta ulteriormente la viscosità del fluido alla superficie delle vie respiratorie, mentre il rilascio di proteasi contribuisce al danno tissutale; si verifica, inoltre, un forte squilibrio del bilancio ossido-riduttivo, dovuto sia alla riduzione della concentrazione di ossido nitrico e di glutazione ridotto, sia all'aumento della concentrazione delle specie reattive dell'ossigeno, prodotte in gran parte dai PMN, soprattutto di anioni superossido, radicali idrossilici e perossidi dell'idrogeno, questi ultimi prodotti non solo dalla fagocitosi frustrata dei PMN, ma anche dalle ossidasi dell'epitelio respiratorio, attivate da prodotti di degradazione batterica (Fig. 2) (2).

Al momento il farmaco antinfiammatorio di riferimento, per la FC, è l'ibuprofene, che tuttavia presenta una serie di effetti indesiderati, tra cui i sanguinamenti del tratto digerente, che rendono necessarie terapie antinfiammatorie alternative. A questo proposito il gruppo di ricerca del Laboratorio di Patologia Molecolare-AOUI di Verona, inserito in una rete collaborativa internazionale, sta lavorando essenzialmente in quattro direzioni, di seguito indicate.

1) Un primo approccio riguarda la ricerca di nuovi bersagli molecolari più specifici per la FC: sono stati identificati

Figura 1. L'infezione batterica amplifica lo stato infiammatorio polmonare nella FC (da: Cabrini G. 2010; mod.).

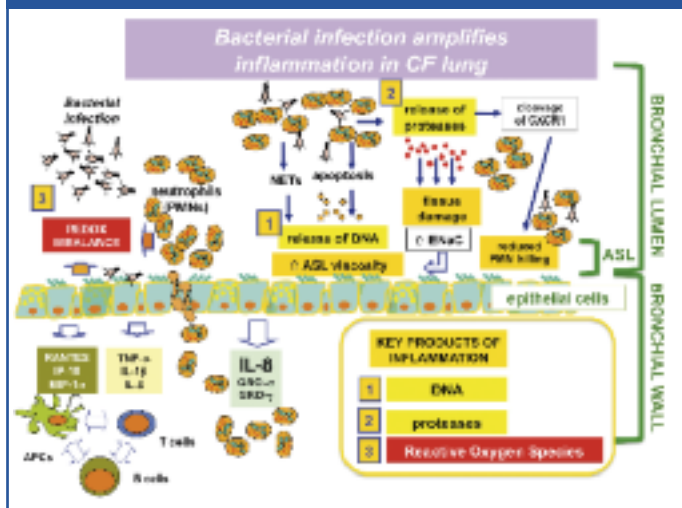
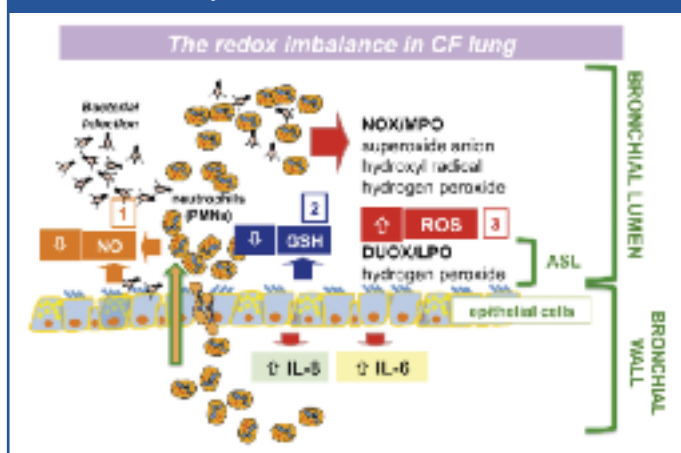


Figura 2. Squilibrio redox a livello polmonare nella FC (da: Galli F. 2012; mod.).



svariati meccanismi di signaling cellulare, oltre a quello mediato dall'NF- $\kappa$ B, attivati dall'interazione di batteri, come lo *Pseudomonas aeruginosa*, con recettori toll-like presenti sulla membrana apicale delle cellule epiteliali delle vie respiratorie, e che comprendono sia altri fattori di trascrizione nucleare, come NF-IL6, AP-1, CHOP e CREB, sia una serie di chinasi, MAPK ERK1/2, MAPK p38, RSK1/2 e HSP27 (3). La conoscenza di questi nuovi target molecolari è di grande importanza nell'ottica di utilizzare molecole farmacologiche che possono rivelarsi utili nella modulazione di alcuni passaggi del signaling per FC.

2) Il secondo approccio riguarda il problema della ridondanza del signaling proinfiammatorio e quindi l'identificazione di vie di signaling realmente rilevanti per l'infiammazione polmonare dei pazienti con FC. Un tentativo è quello di vedere quali geni dell'infiammazione sono più importanti nel condizionare la progressione della patologia polmonare di questi pazienti. È stato condotto, a questo proposito, uno studio di associazione per geni candidati, nel quale sono stati arbitrariamente scelti 135 geni della risposta immunitaria innata e di questi sono stati selezionati 721 polimorfismi caratteristici, che sono stati poi confrontati con il quadro clinico di 308 pazienti omozigoti per la mutazione più comune DeltaF508, suddivisi in due gruppi, con grado minore o maggiore di gravità della malattia (4). Lo studio ha evidenziato il ruolo carat-

teristico della fosfolipasi CB3, ritenuta una via di potenziamento della via classica TLR/MyD88, e che è stata associata alla progressione della patologia polmonare in pazienti con FC; inibendo questa via, con adeguati approcci farmacologici, si potrebbe ottenere una riduzione della risposta infiammatoria senza abolire la risposta antinfettiva che, comunque, va sempre preservata.

3) Una terza strategia in esame è quella nota come "riposizionamento farmacologico". Lo sviluppo di un farmaco da una molecola di laboratorio è un processo lungo e costoso e quindi vale la pena di valutare l'ampia gamma di farmaci già disponibili per la loro efficacia anche nella FC. Sulla base dell'evidenza di uno stretto rapporto tra difetto della CFTR e metabolismo degli sfingolipidi, in particolare in situazioni di accumulo di alcune ceramidi nell'epitelio respiratorio di pazienti con FC, è stato testato il Miglustat-Zavesca, un farmaco utilizzato nella terapia della malattia di Gaucher, e che effettivamente inibisce enzimi coinvolti nella regolazione del metabolismo degli sfingolipidi (5). Il Miglustat ha tuttavia diversi effetti indesiderati e quindi sono al momento in studio analoghi che conservino l'attività antinfiammatoria, ma riducano gli effetti indesiderati.

4) Il quarto approccio è di tipo empirico classico di screening di libraries. Partendo da due libraries di piante medicinali, del Libano e del Bangladesh, sono stati testati, su modelli cellulari *in vitro*, diversi estratti medicinali, per valutare un'eventuale azione antinfiammatoria. L'estratto di *Aegle marmelos* ha dato risultati interessanti e, in particolare, uno dei suoi componenti, il 5-metossi-psoralene (5-MOP) ha mostrato una discreta attività antinfiammatoria sull'espressione dell'mRNA per l'IL-8 con una IC<sub>50</sub> di ~10  $\mu$ M. Del resto il 5-MOP e l'8-MOP sono largamente utilizzati nel trattamento della psoriasi, poiché inibiscono il rilascio di TNF- $\alpha$  e VEGF nei tessuti e l'espressione di ICAM-1 nei cheratinociti. Con un analogo di sintesi del 5-MOP, la 4,6,4'-trimetilangelicina (TMA) è stata ottenuta un'importante inibizione della trascrizione e secrezione di IL-8 indotta da *Pseudomonas aeruginosa*, a concentrazioni molto inferiori rispetto al 5-MOP (IC<sub>50</sub> 100 nM). I meccanismi dell'azione inibitoria sono ancora in fase di

elucidazione, tuttavia è stato osservato che la TMA inibisce la fosforilazione di una serie di chinasi coinvolte nel signaling proinfiammatorio transmembrana e interferisce con il fattore di trascrizione NF- $\kappa$ B attivato, inibendone il legame al promoter dell'IL-8 (6). In modelli sperimentali *in vivo*, TMA riduce, a concentrazioni piuttosto basse, il reclutamento dei PMN nel lavaggio broncoalveolare di topi esposti in acuto a *Pseudomonas aeruginosa*; tale effetto si manifesta senza ridurre le capacità antinfettive del polmone. Su numerose linee cellulari epiteliali di diversa origine, TMA è, inoltre, un correttore della proteina CFTR con la mutazione più comune DeltaF508. Gli effetti di recupero della capacità di trasportatore del cloro della CFTR, osservati con TMA, sono paragonabili a quelli ottenuti con un farmaco di riferimento, il VX-809, con il vantaggio che l'effetto si esplica a concentrazioni di TMA di molto inferiori (100-200 nM) a quelle del VX-809 (5  $\mu$ M). Per la TMA è stato depositato il brevetto internazionale ed è stata richiesta la designazione di farmaco orfano. La ricerca di nuove terapie, contro l'infiammazione polmonare nella FC, deve quindi essere orientata da un lato alla riduzione del signaling proinfiammatorio, senza ridurre le capacità antinfettive dell'organo e, parallelamente, alla neutralizzazione dei prodotti di infiammazione; in

questo processo un ruolo di primo piano spetta senz'altro alle terapie antiossidanti e antiproteasi; inoltre sono senz'altro importanti studi di meccanicistica dell'infiammazione mirati a elucidare i meccanismi della risposta immune innata e adattativa e i meccanismi di riparo e remodeling coinvolti nelle infiammazioni delle vie respiratorie, in particolare nella FC (7-9).

*Si ringraziano i principali collaboratori che hanno contribuito ad ottenere i risultati sintetizzati in questa presentazione, ed in particolare i gruppi di ricerca diretti da Roberto Gambari e Paolo Pinton (Università di Ferrara), Valeria Casavola (Università di Bari), Adriana Chilin e Francesco Dall'Acqua (Università di Padova), Alessandra Bragonzi (Istituto San Raffaele di Milano), Giorgio Berton (Università di Verona), Paolo Gasparini (Università di Trieste), Mike R. Knowles e T. Kendall Harden (University of North Carolina - Chapel Hill, NC), Mitchell Drumm (Case Western Reserve University, Cleveland, OH) e la Fondazione Italiana per la Ricerca sulla Fibrosi Cistica (Verona) per il supporto a numerosi progetti di ricerca.*

## Bibliografia

1. Cabrini G, Bezzeri V, Mancini I et al. Targeting transcription factor activity as a strategy to inhibit pro-inflammatory genes involved in cystic fibrosis: decoy oligonucleotides and low-molecular weight compounds. *Curr Med Chem* 2010;17(35):4392-4404.
2. Galli F, Battistoni A, Gambari R et al. Oxidative stress and antioxidant therapy in cystic fibrosis. *Biochim Biophys Acta* 2012;1822:690-713.
3. Bezzeri V, Borgatti M, Finotti A, Tamanini A, Gambari R, Cabrini G. Mapping the transcriptional machinery of the IL-8 gene in human bronchial epithelial cells. *J Immunol* 2011;187(11):6069-6081.
4. Bezzeri V, d'Adamo P, Rimessi A et al. Phospholipase C  $\beta$ 3 is a key modulator of IL-8 expression in cystic fibrosis bronchial epithelial cells. *J Immunol* 2011;186(8):4946-4958.
5. Dehecchi MC, Nicolis E, Mazzi P et al. Modulators of sphingolipid metabolism reduce lung inflammation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2011;45(4):825-833.
6. Tamanini A, Borgatti M, Finotti A et al. Trimethylangelicin reduces IL-8 transcription and potentiates CFTR function. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2011;300(3):L380-L390.
7. Rowe SM, Borowitz DS, Burns JL. Progress in cystic fibrosis and the CF Therapeutics Development Network. *Thorax* 2012;67(10):882-890.
8. Ramsey BW, Banks-Schlegel S, Accurso FJ et al. Future directions in early cystic fibrosis lung disease research: an NHLBI workshop report. *Am J Respir Crit Care Med* 2012;185(8):887-892.
9. Konstan MW and Simon L. Plenary Session II. The Cystic Fibrosis patient assistance program at the 23rd Annual NACFC. October 15<sup>th</sup>-17<sup>th</sup> 2009 in Minneapolis, Minnesota.

# Modulazione dell'autofagia come strategia alternativa per il controllo dell'infiammazione polmonare nella Fibrosi Cistica

L. Maiuri\*, V. Raia\*\*

\*European Institute for Research in Cystic Fibrosis, San Raffaele Scientific Institute, Milano

\*\* Centro Regionale Fibrosi Cistica, Dipartimento di Pediatria, Università di Napoli Federico II

La Fibrosi Cistica (FC) è, a prescindere dalla mutazione della CFTR, essenzialmente una patologia da perdita di funzione, che ha due conseguenze fondamentali; l'infiammazione e la suscettibilità alle infezioni. Il farmaco ideale per la FC dovrebbe essere quindi in grado di correggere la CFTR, ma anche di controllare la risposta iper-infiammatoria.

Si è parlato a lungo di correttori e potenziatori della CFTR, identificati con la tecnica di *highthroughput screening*, che consente di individuare composti potenzialmente efficaci nel migliorare la funzione di canale, con un approccio top-down. Con un tale approccio, mutazione-specifico, sono stati identificati il potenziatore VX-770, estremamente efficace nell'aumentare la funzione di canale, e il correttore VX-809 (1); il primo è tuttavia efficace solo su una mutazione estremamente rara, almeno in Italia, mentre il secondo non si è dimostrato efficace *in vivo* ed è in corso uno studio clinico di combinazione del VX-770 con il VX-809 per valutare eventuali effetti sinergici dei due farmaci.

La mutazione DeltaF508, a carico della CFTR, ne determina il *misfolding*, e quindi l'impossibilità di arrivare alla membrana, con conseguente perdita della funzione.

I correttori come il VX-809 riescono a riportare la CFTR mutata a livello della membrana dell'epitelio respiratorio.

La DeltaF508 ha, tuttavia, un'emivita brevissima e, una volta raggiunta la membrana, viene immediatamente degradata; l'obiettivo dovrebbe essere quindi quello non solo di far arrivare la DeltaF508 sulla membrana, ma anche far sì che essa vi rimanga e possa essere così raggiunta da un potenziatore.

In questo quadro è utile ripensare alla FC come una

malattia cellulare, che rientra nelle malattie conformazionali, caratterizzate da un accumulo di proteine misfolded/danneggiate, conseguente a mutazioni genetiche o a variazioni nella conformazione a seguito di stress ossidativi.

Queste malattie hanno in comune un'alterazione della proteostasi, il meccanismo di regolazione delle proteine che orchestra il macchinario cellulare in maniera specifica per ogni tipo di cellula, determinando il destino della cellula stessa e, di conseguenza, dell'organismo.

Le malattie conformazionali classiche sono il diabete tipo 2, l'obesità, l'invecchiamento, le malattie neurodegenerative del sistema nervoso centrale e le malattie genetiche come la retinite pigmentosa.

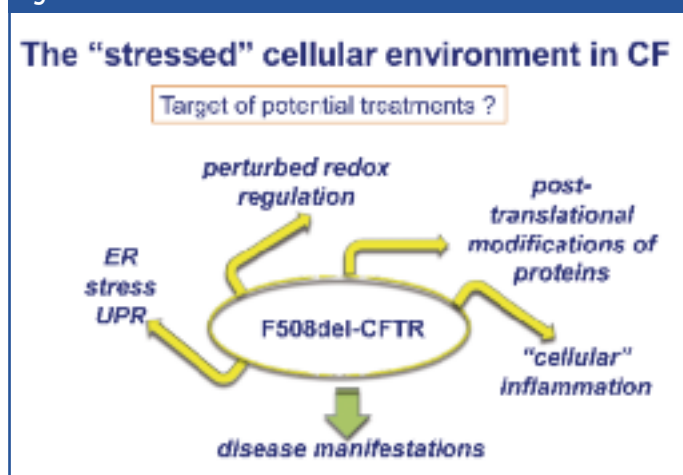
Tutte queste patologie sono accomunate da un carico eccessivo sul reticolo endoplasmatico (ER). In condizioni normali di proteostasi vengono innescati meccanismi riparatori dell'evento, ma se il carico è eccessivo la macchina della proteostasi non è più in grado di riequilibrarsi.

Nella cellula con FC troviamo tutte le caratteristiche di stress dell'ER, al quale contribuiscono l'attivazione della *unfolded protein response*, lo squilibrio della bilancia ossido-riduttiva e le modifiche post-translazionali delle proteine (Fig. 1), e dal quale la cellula tenta di difendersi paradossalmente mettendo in moto meccanismi infiammatori. È stato descritto che la transglutaminasi tissutale (TG2) è un reostato, cioè un enzima con varie attività, fra cui un'attività calcio-dipendente, che consente il *crosslinking* di diverse proteine.

Nella FC si verifica una modifica post-translazionale di questa proteina, indotta dai ROS, che non consente la degradazione della TG2, determinando un carico

## MODULAZIONE DELL'AUTOFAGIA COME STRATEGIA ALTERNATIVA PER IL CONTROLLO DELL'INFIAMMAZIONE POLMONARE NELLA FIBROSI CISTICA

Figura 1. Lo "stress" dell'ambiente cellulare nella FC.



massivo del proteosoma; si arriva allora a un'aggregazione di molte molecole in complessi intracellulari detti aggresomi. Tra queste molecole vi sono la stessa CFTR e molecole antinfiammatorie cruciali, come il PPAR $\gamma$  e l'IKB $\alpha$ . In condizioni normali gli aggresomi si eliminano per autofagia, un meccanismo di "pulizia" che le cellule adottano a seguito di vari stress per la loro stessa sopravvivenza. L'autofagia è un processo per cui si formano vescicole a doppia membrana, che inglobano rifiuti tossici sparsi nella cellula e organelli invecchiati o danneggiati, portandoli nei lisosomi, il cui contenuto acido provvede alla degradazione del contenuto delle vescicole.

Nella FC si verifica un'inibizione proprio delle prime fasi del processo autofagico, poiché tra le molecole cross-linkate, ubiquitinate e aggregate, si trovano anche Beclin 1 e il suo interattoma, che comprende una serie di proteine, come la Vsp34, cruciali per la formazione delle vescicole autofagiche; ne consegue che i mitocondri, anch'essi danneggiati, non possono essere eliminati e continuano a produrre ROS, instaurando così un circolo vizioso che amplifica il processo infiammatorio. Il ripristino della corretta autofagia diventa quindi un potenziale target di terapia (2,3); a questo scopo sono stati utilizzati diversi approcci: il primo si è basato sull'utilizzo della cisteamina, come inibitore dell'atti-

vità della TG, e di una catalasi SOD-mimetica, l'Euk134, per il controllo dei livelli di ROS. Un altro approccio è stato quello di andare a influire direttamente su Beclin 1 o sulla p62, una proteina che si accumula in situazioni di autofagia difettiva.

Attraverso silenziamenti genici e tecniche di *gene delivery in vivo*, è stato dimostrato che con la deplezione della p62 o la overespressione di Beclin 1 è possibile controllare sia l'infiammazione costitutiva sia quella indotta con LPS da *Pseudomonas aeruginosa*.

Con il ripristino dell'autofagia la DeltaF508-CFTR riprende a funzionare e a muoversi verso la membrana, anche se la cisteamina e l'Euk134 non sono veri e propri correttori: i correttori, infatti, veicolano la proteina mutata sulla membrana. La cisteamina e l'Euk134 agiscono regolando la proteostasi; una volta sulla membrana la proteina deve essere stabilizzata, per permettere poi l'azione dei potenziatori della sua attività.

In esperimenti in cui cisteamina e l'Euk134 sono stati utilizzati in comparazione con due correttori standard, il Vrx325 e il Corr-4a, è stato osservato che questi regolatori della proteostasi sono in grado non solo di riportare la DeltaF508 sulla membrana, ma anche di stabilizzarla, anche diverse ore dal *washout* del farmaco (4); questo processo comporta un miglioramento della funzione di canale e, quindi, un aumento dell'efflusso di cloro.

Su cellule epiteliali nasali di pazienti omozigoti per la DeltaF508, il trattamento con cisteamina, o con Euk134, è in grado di migliorare l'efflusso di cloro dopo 24 dal *washout*. In modelli *in vivo* è stato osservato che, a distanza di 10 giorni dalla sospensione del farmaco, la CFTR era ancora sulla membrana.

La CFTR stabilizzata sulla membrana dovrebbe rispondere al potenziatore. Questo è stato confermato in esperimenti *in vivo* in cui a 10 giorni dal *washout* della cisteamina, si è stimolata l'infezione con LPS e somministrato il potenziatore.

È stato inoltre osservato che, in queste condizioni, il potenziatore è in grado di ridurre significativamente l'infiammazione polmonare, a dimostrazione che i potenziatori della CFTR possono funzionare se l'ambien-

te in cui la DeltaF508 traffica è stato preventivamente corretto; questo è stato verificato anche in cellule da biopsie di polipi nasali di pazienti con FC, coltivate in presenza di cisteamina.

Il potenziale impiego clinico della cisteamina nella FC è sostenuto dal fatto che questa molecola è già utilizzata in patologia umana, nella malattia di Huntington, nella lipofusinosi infantile e nella steatosi non alcolica.

---

## Bibliografia

1. Ramsey BW, Davies J, McElvaney NG et al. VX08-770-102 Study Group. A CFTR potentiator in patients with cystic fibrosis and the G551D mutation. *N Engl J Med* 2011;365(18):1663-1672.
2. Luciani A, Vilella VR, Esposito S et al. Defective CFTR induces aggresome formation and lung inflammation in cystic fibrosis through ROS-mediated autophagy inhibition. *Nat Cell Biol* 2010;12(9):863-875.
3. Luciani A, Vilella VR, Esposito S. Cystic fibrosis: a disorder with defective autophagy. *Autophagy* 2011;7(1):104-106.
4. Luciani A, Vilella VR, Esposito S et al. Targeting autophagy as a novel strategy for facilitating the therapeutic action of potentiators on  $\Delta F508$  cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *Autophagy* 2012;8(11):1657-1672.



# Azioni farmacodinamiche del glutathione ridotto e suo ruolo nella Fibrosi Cistica

G. De Luca

Medical Consultant-Rome

Nella sua forma ridotta il glutathione ridotto (GSH) è un tripeptide, glutamil-L-cisteinil-glicina, contenente un gruppo tiolico SH, la cui sintesi avviene all'interno della cellula per intervento di due enzimi, la  $\gamma$ -glutamyl-cisteina sintetasi, che lega la cisteina al glutammato, e la glutathione sintetasi, che termina la catena tripeptidica legando la glicina al dipeptide. Le concentrazioni intracellulari oscillano, a seconda dei siti, tra 0,5-10 mM, mentre le concentrazioni plasmatiche sono molto più basse e dell'ordine  $\mu$ M. Nella cellula il GSH è localizzato prevalentemente nel citosol e solo per il 10-15% nei mitocondri. Nell'uomo i siti che presentano i livelli più elevati di glutathione sono il fegato, il cristallino, il rene, il pancreas, la milza e il liquido che riveste l'epitelio polmonare, siti accomunati da un forte stress ossidativo (1-3).

Studi di farmacologia preclinica e clinica hanno dimostrato che il GSH protegge le cellule, soprattutto quelle epatiche, dall'azione di agenti xenobiotici, neutralizzandoli attraverso il meccanismo della coniugazione. Esso inoltre protegge le cellule dagli ossidanti, sia ambientali che intracellulari, e dalle radiazioni ionizzanti.

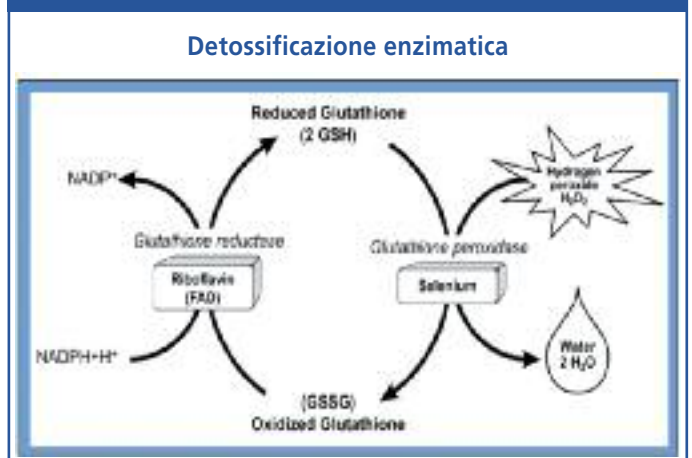
Il GSH esplica queste attività attraverso due meccanismi: un meccanismo non enzimatico, con cui i gruppi SH del GSH neutralizzano direttamente i radicali liberi, e un meccanismo enzimatico, in cui il GSH diventa substrato per la glutathione-perossidasi, con conseguente neutralizzazione di perossidi; in entrambi i casi il GSH, ossidato a GSSG, viene ripristinato per azione della glutathione-reductasi (Figg. 1,2) (2).

In clinica il GSH è utilizzato in varie situazioni legate a stress ossidativo, tra cui epatopatie alcoliche e non alcoliche, abuso di paracetamolo, profilassi della neuropatia periferica conseguente a trattamenti chemioterapici con ci-

Figura 1. Glutathione: ruolo fisiologico (da: Exner R. 2000; mod.).



Figura 2. Glutathione: ruolo fisiologico (da: Exner R. 2000; mod.).



splattino e suoi analoghi. Il GSH svolge un ruolo importante anche nel sistema immunitario: numerose evidenze dimostrano che la riduzione del rapporto GSH/GSSG,

nelle cellule del sistema immunitario, attiva il fattore nucleare di trascrizione NF- $\kappa$ B, che codifica per la sintesi di numerose citochine proinfiammatorie, tra cui TNF- $\alpha$ , IL-8, IL-6 e IL-1 $\alpha$  (4).

Normali livelli di GSH regolano importanti funzioni del sistema immunitario come chemiotassi, fagocitosi, apoptosi, rapporto redox, presentazione dell'antigene, rilascio di enzimi lisosomiali e attivazione dei linfociti T e B; la riduzione del GSH provoca anche la riduzione dei livelli di ossido nitrico, con conseguente riduzione della funzione battericida (4).

Nel liquido che riveste l'epitelio (ELF-Epithelial Lining Fluid) polmonare le concentrazioni di GSH sono 140 volte superiori a quelle plasmatiche e il rapporto redox è  $>9:1$  (4), rappresentando il GSH più del 95% del glutatione totale (5). A livello polmonare il GSH ha essenzialmente un'azione mucolitica, grazie alla presenza dei gruppi SH che rompono i ponti disolfuro della mucina, un'azione favorente l'attività mucociliare e un'azione di difesa antiossidante (5). La Fibrosi Cistica (FC) è considerata la prima malattia identificata essere collegata a una disfunzione del sistema del GSH (4); in essa si osservano, infatti, livelli di glutatione totale nell'ELF polmonare inferiori del 10-50% rispetto ai valori normali, ma soprattutto un ridotto rapporto GSH/GSSG, che scende a 3:1. I soggetti con FC, quindi, non beneficiano pienamente degli effetti antiossidanti e mucolitici del GSH e il deficit della proteina CFTR non consente l'efflusso di GSH dalle cellule dell'epitelio polmonare; si ha, quindi, una riduzione del rapporto GSH/GSSG, che ha due conseguenze importanti: da un lato si verifica l'ispessimento del muco per deficit dei gruppi SH in grado di rompere i ponti disolfuro della mucina e dall'altro l'instaurarsi di uno stress ossidativo e l'innesco del processo infiammatorio, caratterizzato dal reclutamento di leucociti, soprattutto PMN, depleti di GSH, nelle vie aeree. Questi PMN trascrivono l'NF- $\kappa$ B, amplificando la cascata infiammatoria e instaurando un'infiammazione cronica. I PMN depleti di GSH, inoltre, non sono più in grado di svolgere le loro normali funzioni immunitarie, con conseguente apoptosi precoce e ridotta immunità fun-

zionale. Il risultato finale è la facilità di colonizzazione microbica, cui contribuiscono anche l'ispessimento del muco e la ridotta attività mucociliare.

L'infezione e l'infiammazione croniche provocano aumentata attività dell'elastasi, con distruzione delle strutture polmonari e sviluppo di bronchiectasie (Fig. 3) (4). Sulla base di queste osservazioni sono stati disegnati studi clinici per la valutazione degli effetti del GSH somministrato per aerosol a soggetti con FC. In uno studio del 1999 il GSH è stato somministrato a 7 soggetti con FC di grado moderato, con età media di 25 anni, al dosaggio di 600 mg bid per 3 giorni (3); lo studio ha valutato anche le concentrazioni di glutatione totale ridotto e ossidato nell'ELF di questi pazienti prima e dopo la terapia.

In tutti i pazienti è stato osservato un aumento sia del glutatione totale che del GSH e del GSSG; quest'ultimo risultato è stato interpretato come un effetto dell'utilizzo del GSH, la cui azione antiossidante è stata dimostrata anche dalla diminuzione del rilascio di anioni superossido nell'ELF di tutti i soggetti esaminati.

Un altro studio, randomizzato in doppio cieco, controllato vs placebo, e pubblicato nel 2005, ha valutato l'effetto della somministrazione, per aerosol, di GSH alla dose di 66 mg/kg/die, per 8 settimane su 19 soggetti con FC (età 6-19 anni) (4). Lo studio ha valutato parametri di funzionalità respiratoria, come FVC, FEVC, FEF e *peak-flow*, di benessere fisico, come la distanza di percorso, la sensazione di vigore e il benessere generale, e parametri clinici come frequenza della tosse, quantità, viscosità e colore dell'escreato.

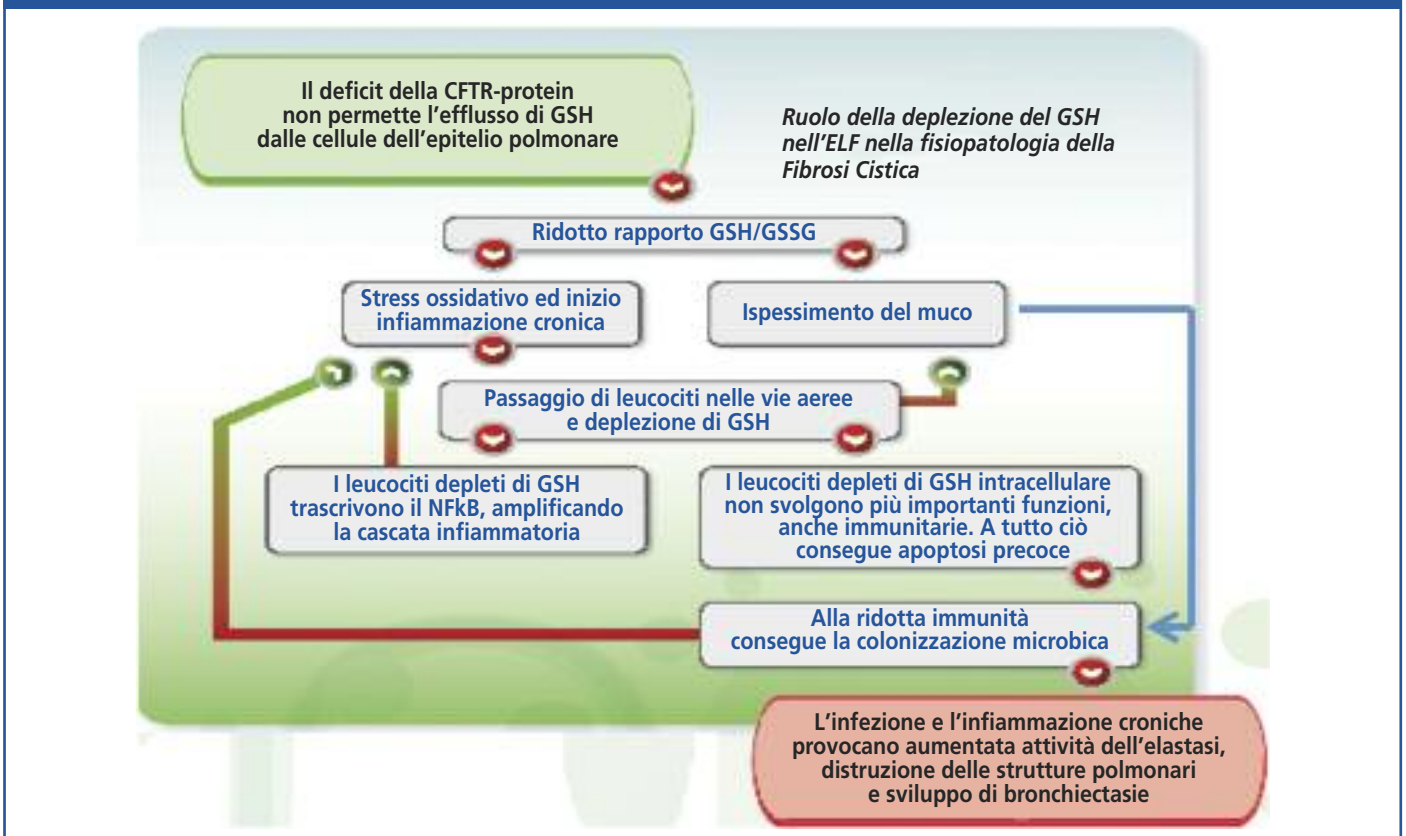
Tutti i parametri valutati hanno avuto un andamento positivo dopo il trattamento con GSH, con differenze statisticamente significative soprattutto nel *peak flow* e nella sensazione di miglioramento soggettivo del paziente.

Recentemente sono stati pubblicati i risultati di uno studio *in vitro* su colture di *Burkholderia cenocepacia* ottenute dall'escreato di soggetti con FC, che mostrano come il GSH (10 mM) sia in grado di ridurre la capacità di *Burkholderia cenocepacia* di aderire e di invadere le cellule epiteliali delle vie aeree (6); questo effetto è correlato all'aumento GSH-

dipendente dei gruppi tiolici liberi sulla superficie delle cellule epiteliali, le cui proteine di membrana sono coinvolte nel riconoscimento della *Burkholderia cenocepacia*. GSH 10 mM è, inoltre, in grado di modulare l'espressione di IL-8, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  nelle cellule epiteliali respiratorie,

in risposta all'infezione da *Burkholderia cenocepacia*. Nonostante i limiti di uno studio *in vitro*, questi risultati gettano le basi per un approfondimento degli effetti e del meccanismo d'azione del GSH nella difesa dalle infezioni da questo microrganismo in soggetti con FC.

Figura 3. Ruolo della deplezione del GSH nell'ELF nella fisiopatologia della FC (da: Bishop C 2005; mod.).



## Bibliografia

1. Meister A. Metabolism and function of glutathione. In: Dolphin D, Poulson R, Avramovic O (Eds). Glutathione. New York, Wiley and Sons 1989:367-474.
2. Exner R, Wessner B, Manhart N, Roth E. Therapeutic potential of glutathione. *Wien Klin Wochenschr* 2000;112(14):610-616.
3. Roum JH, Borok Z, McElvaney NG. Glutathione aerosol suppresses lung epithelial surface inflammatory cell-derived oxidants in cystic fibrosis. *J Appl Physiol* 1999;87(1):438-443.
4. Bishop C, Hudson VM, Hilton SC, Wilde C. A pilot study of the effect of inhaled buffered reduced glutathione on the clinical status of patients with cystic fibrosis. *Chest* 2005;127(1):308-317.
5. Kelly FJ. Glutathione: in defence of the lung. *Food Chem Toxicol* 1999;37(9-10):963-966.
6. D'Orazio M, Pacello F, Battistoni A. Extracellular glutathione decreases the ability of *Burkholderia cenocepacia* to penetrate into epithelial cells and to induce an inflammatory response. *PLoS One* 2012;7(10):e47550.

# Glutazione ridotto per via inalatoria (GSH) vs placebo nella Fibrosi Cistica: valutazione dello studio clinico

V. Raia\*, V. Carnovale\*\*

\*Centro di Riferimento Regionale della Campania Fibrosi Cistica dell'Età Pediatrica

\*\*Centro di Riferimento Regionale della Campania Fibrosi Cistica dell'Adulto

Il glutazione ridotto (GSH) è il principale meccanismo cellulare di eliminazione delle specie reattive dell'ossigeno (ROS) e quindi di controllo dello stress ossidativo; si tratta di un meccanismo molto complesso e che sicuramente rappresenta solo un aspetto della difficile situazione che viene a crearsi nelle cellule dei soggetti con Fibrosi Cistica (FC) che sicuramente ha la sua base nell'alterazione della proteina CFTR.

Il glutazione è coinvolto in diverse funzioni, proliferazione cellulare, espressione genica, modulazione dell'apoptosi e della risposta immune, controllo della viscosità del muco e capacità di rompere i ponti disolfuro.

La proteina CFTR ha, tra le sue molteplici funzioni, anche quella di veicolare il GSH; le mutazioni a carico della proteina comportano, quindi, anche un'alterazione della funzione di trasporto del GSH e, in definitiva, una diminuzione delle sue concentrazioni nei liquidi extracellulari (1); le anomalie del trasporto del GSH potrebbero pertanto giocare un ruolo causale nelle infezioni polmonari della FC (2).

Recentemente è stato osservato come il GSH extracellulare moduli l'interazione tra *Burkholderia cenocepacia* e le cellule respiratorie epiteliali e inibisce l'invasione batterica in queste cellule (3). Questo suggerisce che le terapie volte a ristabilire livelli normali di GSH, nel liquido di superficie delle vie aeree, possono aiutare a controllare le infezioni polmonari nella FC.

Studi clinici, sia osservazionali sia di intervento, hanno dimostrato che la somministrazione di GSH inalatorio in pazienti con FC è ben tollerata, determina effettivamente un aumento dei livelli di GSH, cui corrisponde un aumento significativo del picco di flusso espiratorio (PEF) e del volume espiratorio forzato nel 1° secondo (FEV<sub>1</sub>). Questi studi presentano tuttavia dei limiti, legati preva-

lentemente alla tipologia degli studi, per lo più osservazionali, al ristretto numero di pazienti, all'età, in quanto solo pochi pazienti erano pediatrici, alla breve durata e al dosaggio variabile; i risultati hanno tuttavia incoraggiato il disegno di due studi clinici: il primo è uno studio tedesco, i cui primi risultati sono comparsi in forma di abstract al Congresso Europeo sulla FC; si tratta di uno studio controllato, randomizzato, della durata di 24 settimane, che ha valutato l'incremento del FEV<sub>1</sub>, rispetto al placebo, in 153 soggetti con FC, di età >8 anni (4).

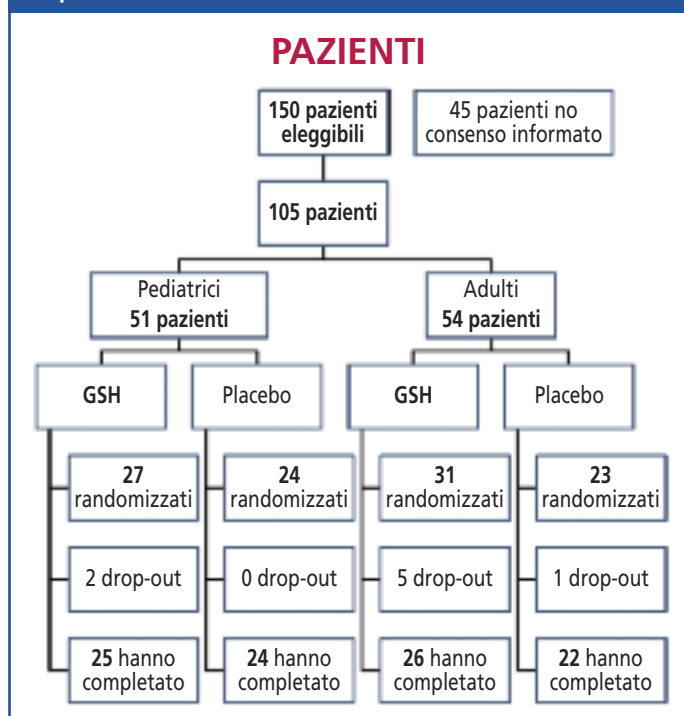
I risultati non sono stati eccezionali, in quanto è stato riportato solo un lieve effetto sul FEV<sub>1</sub> a 3 mesi, ma nessun miglioramento significativo nel peso corporeo, nel numero di riacutizzazioni polmonari e nella qualità di vita. Un secondo studio clinico, randomizzato, controllato con placebo, a singolo cieco, della durata di 12 mesi, ha visto la collaborazione tra i Centri di Riferimento per la FC di Napoli e Roma, e la II Università di Napoli e approvato dall'AIFA (5).

I criteri di inclusione prevedevano: diagnosi di FC (test del sudore patologico - Cl > 60 mmol/l - e/o presenza di due mutazioni CF-causing all'analisi molecolare del gene CFTR), un'età >6 anni, condizioni cliniche stabili. Colonizzazione respiratoria da *Burkholderia cenocepacia*, storia di emottisi o pneumotorace, FEV<sub>1</sub> <40% del valore predetto per età e sesso, stato di gravidanza o assunzione di contraccettivi orali, fumo di sigaretta e decremento maggiore del 15% del FEV<sub>1</sub>% al test di inalazione con GSH determinavano l'esclusione dallo studio.

L'endpoint primario era il grado di ostruzione e infiammazione delle vie aeree; endpoint secondari erano capacità di esercizio, BMI, sintomi respiratori, qualità della vita, frequenza di riacutizzazioni respiratorie, numero di ri-

**GLUTATIONE RIDOTTO PER VIA INALATORIA (GSH) VS PLACEBO NELLA FIBROSI CISTICA:  
VALUTAZIONE DELLO STUDIO CLINICO**

**Figura 1. Caratteristiche dei pazienti arruolati e che hanno completato lo studio.**



coveri ospedalieri, somministrazioni antibiotiche e livelli di marker di stress ossidativo in EBC (Exhaled Breath Condensate), siero e cellule epiteliali nasali.

Sono stati arruolati 105 pazienti, 51 pediatrici e 54 adulti, randomizzati a GSH (max 600 mg/dose) o placebo (soluzione salina allo 0,9%), previo test di tollerabilità al GSH che ne consentiva il reclutamento solo in caso di mancato decremento del FEV<sub>1</sub>% >15% (Fig. 1).

All'inizio dello studio e a 1, 3, 6 e 9 mesi e fine studio sono stati effettuati i test di spirometria e di cammino a 6 minuti. A inizio e fine studio sono stati valutati anche l'andamento della tosse cronica e la qualità di vita, i marker di stress ossidativo in EBC, siero e cellule epiteliali nasali e il numero di riacutizzazioni/giorni di ospedalizzazione/cicli di antibiotici.

Per quanto riguarda l'endpoint primario, nei pazienti pediatrici è stato osservato un trend di miglioramento nelle prime fasi dello studio, seguito da un decremento del FEV<sub>1</sub>, per cui le differenze tra fine e inizio studio non so-

**Tabella I. Sintesi e risultati dello studio. Popolazione pediatrica.**

1. Sicurezza e tollerabilità del GSH per via inalatoria sia a breve che a lungo termine
2. Predittività del test di tollerabilità al GSH per la risposta al trattamento
3. Migliore risposta al GSH nei pazienti pediatrici con FEV<sub>1</sub>% peggiore
4. Aumento capacità d'esercizio al 6MWT nel gruppo trattato
5. Stabilizzazione delle esacerbazioni polmonari nel gruppo trattato

no risultate significative. Lo stesso andamento è stato osservato per gli endpoint secondari di FEV<sub>1</sub>/FVC e FEF. La capacità di esercizio fisico è invece risultata significativamente migliorata nel gruppo GSH. I marker di stress ossidativo, valutati come concentrazione di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nell'EBC e nel siero non hanno mostrato differenze significative; estrapolando, tuttavia, da questa casistica di pazienti, quelli con FEV<sub>1</sub>% <80%, il trend di miglioramento del FEV<sub>1</sub>% è stato più evidente. Il numero di esacerbazioni polmonari, rispetto all'anno precedente, è aumentato significativamente nel gruppo placebo, mentre è rimasto stabile nel gruppo GSH.

I risultati ottenuti nei pazienti pediatrici confermano la sicurezza e la tollerabilità del GSH per via inalatoria, sia a breve che a lungo termine, e la predittività del test di tollerabilità al GSH per la risposta al trattamento ed evidenziano un aumento della capacità d'esercizio al 6MWT e una migliore risposta al GSH nei pazienti con FEV<sub>1</sub>% peggiore (Tab. I).

Per quanto riguarda il braccio dei pazienti adulti, l'andamento della percentuale del FEV<sub>1</sub> nel corso dello studio si è mantenuto stabile nei pazienti trattati con GSH, mentre ha avuto un peggioramento significativo nel gruppo placebo; il FEV<sub>1</sub> è tuttavia migliorato significativamente nel gruppo GSH, mentre è rimasto stabile nel gruppo placebo alla valutazione effettuata dopo 30 giorni di trattamento. Per quanto riguarda gli endpoint secondari è stata osservata una riduzione del FEF (L/sec), che ha però interessato sia il gruppo GSH che il gruppo placebo.

**Tabella II. Conclusioni. Popolazione adulta.**

1. Sicurezza e tollerabilità del GSH per via inalatoria sia a breve che a lungo termine
2. Stabilità del FEV<sub>1</sub>% nel gruppo trattato
3. Stabilità del BMI nel gruppo trattato
4. Riduzione del FEV<sub>1</sub>% nel gruppo placebo
5. Riduzione del BMI nel gruppo placebo

Il gruppo trattato con GSH si è mantenuto stabile anche nel BMI che, nel gruppo placebo, ha avuto una riduzione significativa, e nella capacità di esercizio fisico.

Nel gruppo GSH è stata osservata anche una riduzione, sebbene non significativa, delle riacutizzazioni respiratorie, dei giorni di ospedalizzazione e una tendenza alla riduzione dello stress ossidativo, non solo a li-

vello sistemico, ma anche a livello dell'esalato respiratorio (EBC).

Le conclusioni che si possono trarre da questi risultati, su pazienti adulti trattati con GSH, confermano la sicurezza e la tollerabilità del GSH per via inalatoria (sia a breve che a lungo termine) ed evidenziano la stabilità del FEV<sub>1</sub>% e del BMI nel gruppo trattato e la riduzione del FEV<sub>1</sub>% e del BMI nel gruppo placebo (Tab. II).

I limiti di questo studio sono riconducibili alla necessità di una popolazione con un range di FEV<sub>1</sub>% più ristretto e alla non disponibilità di metodi di misurazione dell'aderenza alla terapia. Le prospettive riguardano una visione del GSH come un possibile regolatore della clearance muco-ciliare e come antiossidante; sono tuttavia necessari studi collaborativi multicentrici su numeri più ampi di pazienti e per differenti stati di malattia in differenti età.

---

## Bibliografia

1. Gao L, Kim KJ, Yankaskas JR, Forman HJ. Abnormal glutathione transport in cystic fibrosis airway epithelia. *Am J Physiol* 1999;277(1 Pt 1):L113-L118.
2. Day BJ, van Heeckeren AM, Min E, Velsor LW. Role for cystic fibrosis transmembrane conductance regulator protein in a glutathione response to bronchopulmonary Pseudomonas infection. *Infect Immun* 2004;72(4):2045-2051.
3. D'Orazio M, Pacello F, Battistoni A. Extracellular glutathione decreases the ability of Burkholderia cenocepacia to penetrate into epithelial cells and to induce an inflammatory response. *PLoS One* 2012;7(10):e47550.
4. Mukoviszidose Institut gGmbH. Efficacy and Safety Study of Inhaled Glutathione in Cystic Fibrosis Patients. ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00506688.
5. Marsico SA. Inhaled Glutathione (GSH) Versus Placebo in Cystic Fibrosis. ClinicalTrials.gov Identifier:NCT01450267.

# Immunità innata: una gara continua tra geni e ambiente

G. Castaldo<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>CEINGE-Biotecnologie avanzate, Napoli

<sup>2</sup>Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università di Napoli Federico II

La lectina legante il mannosio (MBL) è una proteina dell'immunità innata che, prodotta a livello epatico in forma di trimero, una volta immessa nel siero polimerizza fino a livello di esamero, la sua forma attiva (Fig. 1).

La funzione principale della MBL è quella di attivare il complemento attraverso la via delle lectine, completamente indipendente da quella classica.

La MBL lega la superficie del batterio, facendo ponte con le cellule del sistema immunitario, in particolare con i fagociti che dispongono di recettori per la MBL, aiutando la fagocitosi (Fig. 2): si tratta di una proteina particolare,

Figura 1. Lectina legante il mannosio.

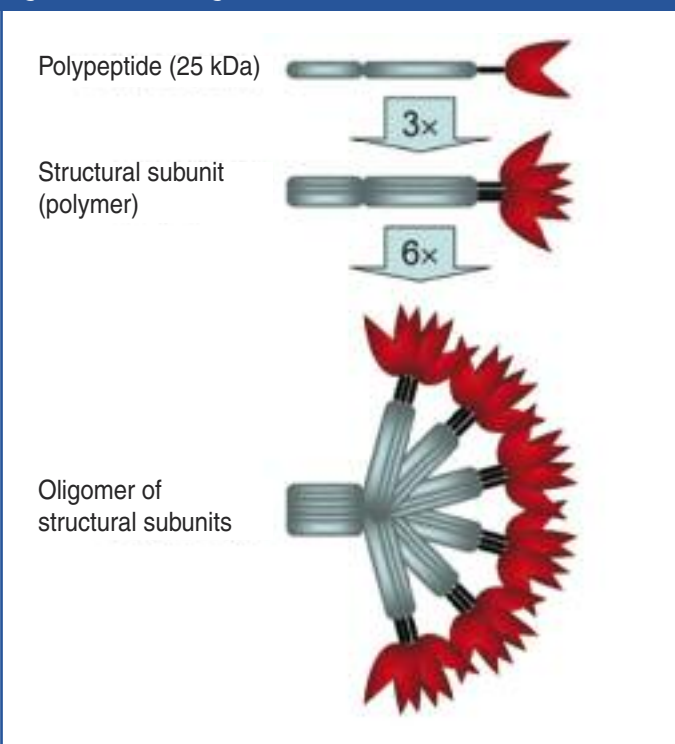
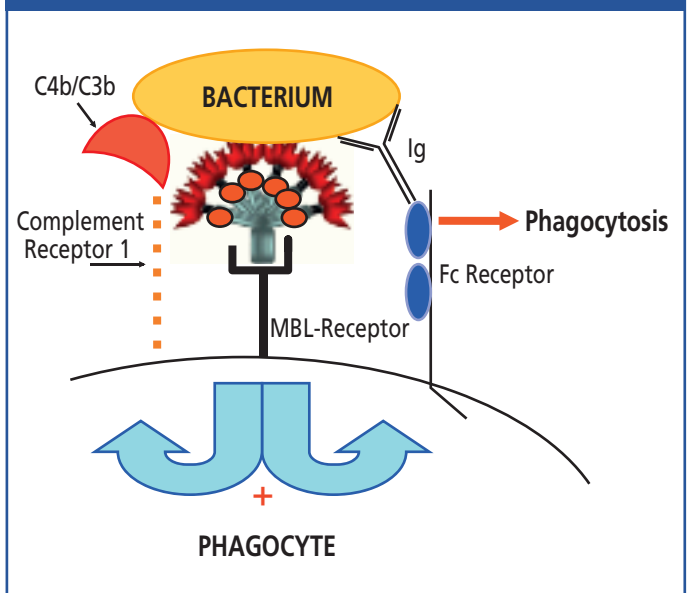


Figura 2. Meccanismo di interazione tra MBL, complemento e superficie cellulare.



poiché a seconda del contesto ambientale, la sua ipo- o iper-funzionalità possono essere vantaggiose o svantaggiose. La MBL è in grado di legare una gran varietà di microrganismi, come *Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae*, *Burkholderia cenocepacia*, *Haemophilus influenzae* ed *Helicobacter pylori*, alcuni dei quali importanti anche nella Fibrosi Cistica (FC). La MBL è codificata a partire da un gene molto semplice, formato solo da 4 esoni, all'interno del quale esistono due gruppi di mutazioni: un primo gruppo riguarda l'esone 1, la porzione che viene tradotta e trascritta a formare la proteina. Queste mutazioni impediscono la polimerizzazione della proteina nel siero e quindi viene sintetizzata una proteina inattiva; un secondo gruppo di mutazioni coinvolge le regioni a monte del gene, importanti

per la regolazione dell'espressione e risulta in una ridotta sintesi del monomero di partenza.

Combinando queste due mutazioni si ottengono diversi aplotipi e, traducendo la variazione genica nel livello funzionale della proteina, è possibile distinguere tre tipi di soggetti: quelli con elevata attività della proteina nei quali la proteina è sintetizzata in giusta quantità nella forma attiva, quelli con attività nulla, nei quali la proteina non è attiva o non è espressa in quantità sufficiente, e quelli con una situazione intermedia.

I soggetti con deficit di MBL sono esposti a una serie di malattie infettive, che colpiscono soprattutto la prima infanzia, nella quale le proteine dell'immunità innata hanno un ruolo fondamentale (Tab. I).

Nel corso degli anni diversi studi hanno dimostrato che la diversa espressione clinica della FC a livello epatico, respiratorio, intestinale, di ileo da meconio ecc., non dipende solo dal tipo di mutazione del gene CFTR, ma anche da mutazioni in altri geni, detti modulatori, dei quali fa parte anche il gene codificante per la MBL (1).

I pazienti con FC, che presentano anche mutazioni nel gene per MBL, sono a rischio maggiore di infezioni sia a livello epatico, sia a livello respiratorio (2-4). Nel 2002 è stato pubblicato uno studio che, per la prima volta, ha testato l'effetto di una MBL ricombinante su un paziente affetto da FC con risultati piuttosto soddisfacenti, che tuttavia fi-

nora non sono stati ripetuti in casistiche più ampie (5).

Per ciò che concerne l'infezione da *Helicobacter pylori* è noto che oltre il 50% della popolazione umana ospita questo batterio e che oltre l'80% dei tumori gastrici si sviluppa in portatori di *Helicobacter pylori*; tuttavia meno dell'1% dei soggetti con infezione da *Helicobacter pylori* sviluppa un carcinoma gastrico e le motivazioni possono essere ricercate o in situazioni legate all'ospite come i livelli di secrezione di HCl, o in fattori di patogenicità legati a *Helicobacter pylori*.

Il nostro gruppo ha condotto uno studio per valutare un'eventuale relazione tra sviluppo di tumore gastrico e frequenza di mutazioni nel gene per MBL e, quindi, deficit di MBL (6). È stato evidenziato che l'aplotipo associato ad attività nulla della proteina si riscontra effettivamente con maggior frequenza nei soggetti con tumore gastrico (6).

Il modello patogenetico, che mette in relazione il deficit di MBL con l'attivazione di IL-1 $\beta$ , è lo sviluppo di un'ipocloridria cronica che porta alla produzione di nitrosamine, favorendo lo sviluppo del tumore gastrico in soggetti che ospitano l'*Helicobacter pylori*; è stato inoltre osservato che la frequenza delle varianti alleliche del gene per MBL, legate a un'ipofunzionalità della proteina, è molto elevata anche nella popolazione generale e quindi si è cercato di capire se queste varianti possano costituire un "vantaggio" per la popolazione sana. Un'ipotesi è che queste varianti possano determinare forme meno severe di malattie autoimmuni (7).

Perfugas, in provincia di Sassari, è il comune con la più alta frequenza al mondo di ultracentenari. Il progetto Akea, in collaborazione con l'Università di Sassari, si è posto l'obiettivo di valutare il funzionamento di MBL in questi soggetti che, tra l'altro, non presentano patologie autoimmuni che invece nel resto della popolazione sarda raggiungono una percentuale fino al 30% dei pazienti.

Contrariamente alle aspettative si è constatato che, nei 142 ultracentenari arruolati nello studio, la frequenza dell'aplotipo MBL con più alta attività è inferiore rispetto alla popolazione di controllo sarda (23,2% vs 42,9%).

Anche i livelli plasmatici di MBL sono significativamente più bassi nei soggetti ultracentenari, rispetto ai controlli (879,6 ng/ml vs 1365,4 ng/ml).

**Tabella I. Patologie associate a deficit di MBL.**

Dermatite atopica	Diarrea cronica dell'infanzia
Aterosclerosi	Fibrosi Cistica
Danno da ischemia funzionale	Malattia pneumococcica invasiva
Aborto spontaneo	HIV
Artrite reumatoide	Malaria
Lupus eritematoso sistemico	Malattia meningococcica
	Aspergillosi polmonare necrotizzante
	Otite media
	Epatite virale
	Cancro gastrico



Lo studio è stato replicato, con risultati del tutto simili, in una popolazione di ultracentenari della provincia di Avellino e il passo successivo è stato quello di ricercare i meccanismi di un tale effetto.

Utilizzando diverse linee cellulari che esprimono il fenotipo senescente, è stato dimostrato che, oltre alle attività immunitarie e fisiologiche già note, MBL è in grado anche di legare e rimuovere le cellule senescenti; in caso di un'iperfunzionalità di MBL, tuttavia, questo può portare a una rottura eccessiva di queste cellule, con conseguente esposizione di antigeni e stimolazione dello sviluppo di malattie autoimmuni.

Un altro contesto ambientale studiato è quello di Gulu, in Uganda, dove è sorta, per volontà del Prof. Luigi Greco, una piccola Facoltà di Medicina, dove insegnano molti docenti dell'Università Federico II di Napoli: in tutta l'Africa, ma soprattutto in Congo, in Sudan e in Uganda, sono frequenti le epidemie di *Ebola*, che causano sistematicamente la morte di circa l'80% delle persone colpite.

Grazie alla collaborazione di uno degli studenti della Facoltà di Medicina di Gulu è stato possibile condurre una piccola osservazione su 15 soggetti sopravvissuti a un'epidemia di *Ebola* verificatasi nel 2000; l'analisi di campioni di DNA da mucosa buccale ha rivelato che 14/15 dei soggetti sopravvissuti sono accomunati dall'espressione dell'aplotipo MBL corrispondente alla massima funzionalità. I rispettivi controlli sani, cioè soggetti che non avevano contratto *Ebola*, esprimevano invece in circa la metà degli alleli l'aplotipo associato a una ridotta funzionalità di MBL. Questi risultati, non pubblicati perché molto preliminari, sono stati tuttavia recentemente confermati da uno studio che supporta l'utilizzo di alte dosi di MBL per trattare l'infezione da virus *Ebola* e da uno studio che ha utilizzato una MBL chimerica ancora più attiva della MBL originale nella terapia contro l'infezione da *Ebola* (8,9). In conclusione MBL ci offre un ulteriore esempio di un sistema biologico la cui funzionalità è sottoposta alla rigorosa modulazione della selezione ambientale.

## Bibliografia

1. Salvatore F, Scudiero O, Castaldo G. Genotype-phenotype correlation in cystic fibrosis: the role of modifier genes. *Am J Med Genet* 2002; 111(1):88-95.
2. Chalmers JD, Fleming GB, Hill AT, Kilpatrick DC. Impact of mannose-binding lectin insufficiency on the course of cystic fibrosis: a review and meta-analysis. *Glycobiology* 2011;21(3):271-282.
3. Muhlebach MS, MacDonald SL, Button B et al. Association between mannan-binding lectin and impaired lung function in cystic fibrosis may be age-dependent. *Clin Exp Immunol* 2006;145(2):302-307.
4. Carlsson M, Sjöholm AG, Eriksson L et al. Deficiency of the mannan-binding lectin pathway of complement and poor outcome in cystic fibrosis: bacterial colonization may be decisive for a relationship. *Clin Exp Immunol* 2005;139(2):306-313.
5. Garred P, Pressler T, Lannig S et al. Mannose-binding lectin (MBL) therapy in an MBL-deficient patient with severe cystic fibrosis lung disease. *Pediatr Pulmonol* 2002;33(3):201-207.
6. Scudiero O, Nardone G, Omodei D. A mannose-binding lectin-defective haplotype is a risk factor for gastric cancer. *Clin Chem* 2006;52(8):1625-1627.
7. Ramos-Casals M, Brito-Zerón P et al. Mannose-binding lectin-low genotypes are associated with milder systemic and immunological disease expression in primary Sjögren's syndrome. *Rheumatology (Oxford)* 2009;48(1):65-69.
8. Michelow IC, Lear C, Scully C et al. High-dose mannose-binding lectin therapy for Ebola virus infection. *J Infect Dis* 2011;203(2):175-179.
9. Michelow IC, Dong M, Mungall BA et al. A novel L-ficolin/mannose-binding lectin chimeric molecule with enhanced activity against Ebola virus. *J Biol Chem* 2010;285(32):24729-24739.

# Verso una partecipazione attiva del paziente con Fibrosi Cistica

F. Berti

Presidente Lega Italiana Fibrosi Cistica Onlus

A livello mondiale è in atto una vera rivoluzione nei rapporti operatori/pazienti, soprattutto nell'ambito delle malattie croniche e rare: il paziente è riconosciuto esperto, soggetto e persona. Questo paziente/persona, esperto nella propria cura, non più oggetto di quanto lo riguarda ma soggetto attivo e consapevole, partecipa in modo critico e propositivo alle scelte che lo riguardano, siano esse personali o collettive, e se ne fa carico insieme agli operatori sanitari, ai ricercatori, ai politici.

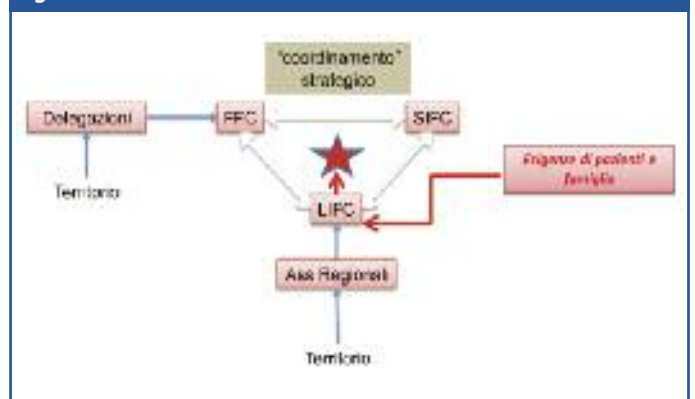
La Lega Italiana Fibrosi Cistica (LIFC) è l'unica organizzazione nazionale che si fa carico di tutti gli aspetti della vita di un paziente, a cominciare dalla sua nascita, dalle cure alla ricerca, dalla tutela sociale alla qualità della vita e, a buon diritto, rappresenta i pazienti e i loro familiari. Questo ruolo è riconosciuto dagli altri soggetti come SIFC, FFC, Direttori dei Centri, Istituzioni. Quello che la Lega per la Fibrosi Cistica ritiene essenziale è l'assoluto rispetto dei ruoli, la pariteticità tra i soggetti in campo e la conoscenza reciproca più profonda.

È necessario cercare di dare voce ai pazienti e ai familiari in modo "organizzato" e creare macro-aree, ad esempio gruppi di regioni adiacenti, come strumento di partecipazione, discussione e consultazione su temi comuni.

Fondamentalmente i pazienti chiedono che si dia ascolto alle loro esigenze e ai loro bisogni e, contemporaneamente, c'è la consapevolezza di contribuire a un percorso di crescita con uno spirito costruttivo, attraverso l'accREDITAMENTO dei Centri, la creazione di registri, il rafforzamento del sistema "Centri", la disponibilità di screening neonatale laddove mancante, la collaborazione con l'AIFA e con il Centro Nazionale Trapianti (CNT).

Per ciò che riguarda la ricerca, il mondo della Fibrosi Cistica (FC) è sempre più attento alle aspettative e alle ri-

Figura 1. Sistema FC Italia.



chieste dei pazienti e dei loro familiari. Il CTN ha, ad esempio, avviato progetti di formazione per i pazienti come valutatori dei progetti di ricerca clinica. È stata firmata un'intesa con la FFC per la condivisione delle strategie ed è stata avanzata, dalla SIFC, una proposta per un maggior coinvolgimento dei pazienti. Questo implica un coordinamento strategico dei tre soggetti, FFC, SIFC e LIFC, quest'ultimo portatore delle esigenze dei pazienti e delle loro famiglie (Fig. 1).

In questo quadro si pone anche lo IERC che, nato diversi anni fa da una situazione bloccata in cui alcuni pazienti già sentivano il bisogno di avere delle risposte diverse, è oggi a pieno titolo integrato nel sistema, si finanzia attraverso grant, incarichi da case farmaceutiche e collaborazioni internazionali.

Come Lega per la Fibrosi Cistica è stata richiesta anche una visita internazionale, che ha dichiarato la struttura di estrema validità, con un'eccellenza dei risultati e buon impiego dei fondi. La LIFC è stata invitata a continuare nel sostenere i costi fissi e nel favorire la ricerca di par-

**Tabella I. La ricerca.**

**Tavolo pazienti e genitori**

- 7 persone
- Soggetti coinvolti con competenze in ricerca
- Funzioni di raccolta e “traduzione” delle esigenze
- Elaborazione proposte per discussione e raccolta indicazioni nelle macro aree
- Traduzione in proposte concrete per bandi

tners. La ricerca deve essere indirizzata naturalmente a cercare di soddisfare le esigenze dei pazienti, da un lato la ricerca di una cura risolutiva, dall'altro qualcosa che almeno migliori la qualità della vita; è stato quindi ideato un tavolo

“pazienti e genitori” (Tab. I), che dovrebbe essere composto da 7 soggetti, coinvolti nella FC e che abbiano competenze in ricerca in generale con la funzione di raccolta e “traduzione”, in termini scientifici, delle esigenze dei pazienti ed elaborazione di proposte per la discussione e raccolta delle indicazioni provenienti da diverse macro-aree, ripercorrendo il percorso fatto per la qualità e gli standard di cura. Tutto ciò dovrebbe tradursi in proposte concrete, che dovrebbero poi trovare accoglienza all'interno dei bandi già esistenti; naturalmente ci si scontra con la realtà della scarsa conoscenza, da parte di LIFC, dei pazienti e quindi è necessario collaborare con SIFC per individuare i pazienti che abbiano competenze in campo scientifico che gli consentano di ragionare con la mentalità dello scienziato, ma contemporaneamente portando avanti il sentire e le esigenze dei pazienti.

