



Fondazione Ricerca  
Fibrosi Cistica - Onlus  
fibrosicisticaricerca.it



# XIX SEMINARIO DI PRIMAVERA

LA CORSA DELLA RICERCA  
VERSO UNA CURA PER TUTTI

VERONA  
SABATO  
19 GIUGNO  
2021

Con il patrocinio  
DELL'ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

*In collaborazione con*



**Azienda Ospedaliera  
Universitaria Integrata  
Verona**



*Con il contributo di*



*In collaborazione con*



CAMERA DI COMMERCIO  
INDUSTRIA ARTIGIANATO  
AGRICOLTURA VERONA

---

*Redazione:*

Graziella Borgo, Luisa Alessio

*Grafica e impaginazione:*

Porpora ADV di Michela Chesini

*Stampa:*

Giugno 2021, Gruppo Sinergia Srl



Fondazione Ricerca  
Fibrosi Cistica - Onlus  
fibrosicisticaricerca.it

# XIX SEMINARIO DI PRIMAVERA

LA CORSA DELLA RICERCA  
VERSO UNA CURA PER TUTTI

**Contributi per un bilancio di ricerca FC  
proiettato al futuro**

**VERONA, SABATO 19 GIUGNO 2021**



# Sommario

---

<b>CONTINUITÀ CON IL PASSATO PER COSTRUIRE IL FUTURO</b>	6
<i>Graziella Borgo, Fondazione Ricerca Fibrosi Cistica</i>	
<b>PROSPETTIVE DELLA RICERCA FFC</b>	8
<b>Sviluppo del piano strategico 2021-2023</b>	
<i>Giorgio Berton, Direttore scientifico Fondazione Ricerca Fibrosi Cistica</i>	
<b>CHI SONO E COME STANNO I MALATI DI FIBROSI CISTICA OGGI IN ITALIA?</b>	13
<b>La fotografia della realtà attraverso il registro-malattia RIFC</b>	
<i>Marco Salvatore, Direttore struttura interdipartimentale Malattie Rare Senza Diagnosi, Istituto Superiore di Sanità</i>	
<b>UNA CURA PER TUTTI: A CHE PUNTO SIAMO?</b>	17
<b>Indagine su chi oggi dispone di farmaci modulatori e chi è ancora in attesa</b>	
<i>Cesare Braggion, Responsabile Area Ricerca clinica, Direzione Scientifica FFC</i>	
<b>LA RICERCA SCIENTIFICA È UN MONDO CONNESSO</b>	22
<b>La fatica mai finita di ricercare</b>	
<i>Massimo Valsecchi, Esperto del NITAG (Gruppo tecnico consultivo nazionale sulle vaccinazioni), Ministero della Salute</i>	
<b>IL GENOME EDITING E LA TERAPIA GENICA PER LA FIBROSI CISTICA</b>	27
<b>DNA e RNA messaggero come bersagli delle più avanzate tecniche genetiche</b>	
<i>Anna Cereseto, Responsabile laboratorio Virologia molecolare, CIBIO - Università di Trento</i>	



## Continuità con il passato per costruire il futuro

Nel progettare questo XIX Seminario di Primavera FFC, abbiamo tutti condiviso l'idea di realizzare un'edizione che fosse in linea con le precedenti, nel segno della continuità della sua finalità caratteristica: lo scopo divulgativo e interattivo. Per questo, abbiamo selezionato argomenti di attualità e di interesse per un pubblico eterogeneo: persone con FC, familiari, volontari, amici e sostenitori di FFC, medici, infermieri, ricercatori e popolazione generale. Abbiamo visto nel Seminario un contenitore di incontri, in cui si parlerà di ricerca scientifica in campo FC e in cui, seppure virtualmente, tutti insieme potranno ritrovarsi, per contarsi e dire "ce l'abbiamo fatta".

I volontari e i malati ce l'hanno fatta. Ce l'hanno fatta a superare la pandemia Covid-19 senza vedere troppi vuoti fra loro; ce l'hanno fatta ad aspettare con ragionevole pazienza la decisione di AIFA e l'eccezionale sostegno del SSN sui nuovi farmaci modulatori; ce la faranno, questo l'augurio, a ritrovarsi e stabilire legami con le nuove persone che sono entrate a vario titolo nella nuova organizzazione di FFC per dare forma a un disegno di rinnovamento fortemente voluto e indispensabile da tempo.

Proprio per contarsi e identificarsi potrà essere utile alle persone con FC e a tutti quelli che sono in qualche modo vicini a loro conoscere i dati del Registro Italiano, una fotografia della realtà di questa malattia oggi nel nostro paese. Realtà che ha portato di recente a importanti decisioni sanitarie che metteranno a disposizione dei malati farmaci innovativi destinati, ci auguriamo, a cambiare il decorso della malattia.

Purtroppo, a oggi, non per tutti la ricerca ha compiuto questo passo eccezionale: alla base della distinzione di quali e quanti di loro potranno usufruirne ci sono conoscenze scientifiche da condividere. La voce di chi oggi può fare festa e di chi ancora aspetta avrà di sicuro maggior peso se cuore e ragione (in questo caso intesa come conoscenza e formazione) andranno di pari passo.

In questo senso il Seminario vuole riportare il valore della scienza e della ricerca al centro dell'attenzione: mai come in questo periodo dobbiamo guardare con gratitudine alla ricerca. In tempi incredibilmente brevi la ricerca ha prodotto vaccini anti Covid-19 efficaci e

sicuri, risultato possibile grazie al percorso compiuto negli anni precedenti, passo per passo, a volte con arresti e digressioni, a volte con balzi inaspettati. Le ricadute di questo successo saranno imprevedibili e riguarderanno anche nuove strategie terapeutiche per la fibrosi cistica, possibilmente nell'affascinante campo della correzione del DNA o dell'informazione portata dall'RNA messaggero.

In un contesto così carico di significati, il nuovo direttore scientifico Giorgio Berton illustrerà come e dove si muoverà la ricerca di questa Fondazione nei prossimi anni. Anche qui il momento è di quelli cruciali: FFC può tirare alcune somme nel campo in cui ha maggiormente investito, la ricerca di base, così come può affermare che nel tempo un numero non piccolo di progetti ha prodotto molecole molto vicine alla sperimentazione clinica (il correttore ARN23765 di *Task Force for Cystic Fibrosis* ne è la dimostrazione più avanzata e più solida). Inoltre, la conoscenza di alcuni problemi specificatamente italiani spinge FFC a promuovere particolari progetti (progetti strategici) senza che siano sottoposti al meccanismo della selezione con il bando nazionale. In questa visione si colloca un nuovo impulso alla ricerca clinica per guardare agli effetti dei nuovi farmaci nella vita reale, effetti tutti ancora da scoprire e da seguire con attenzione per capire se manterranno le promesse.

Ma forse la vera sfida è che FFC possa continuare a crescere mantenendo quella che Gianni Mastella chiamava la sua "anima", fatta di un raro impasto. Da un lato il valore fondante della ricerca e dei suoi metodi rigorosi, dall'altro una vitale capacità di aggregazione, solidarietà, generosità intorno a un obiettivo etico: trovare la cura per una malattia genetica che accorcia drammaticamente la qualità e la durata della vita.

Per raggiungere questo obiettivo, i volontari FFC investono con successo tutte le loro energie. Non dimentichiamo però che la raccolta di fondi è il mezzo da adottare, non il fine e l'indicatore del successo di FFC.

Al centro di tutto rimane la ricerca scientifica, i nuovi saperi e la conoscenza, da condividere e da diffondere. All'orizzonte, la tappa finale, quella di un'intera collettività di malati che arriverà a godere dei risultati della ricerca; e di una società che guarda davvero al futuro perché è fatta da individui che si informano, conoscono e sostengono la ricerca.

Graziella Borgo  
*Fondazione Ricerca Fibrosi Cistica*



## DOVE VA LA RICERCA FFC

### Sviluppo del piano strategico 2021-2023

**Giorgio Berton**

Direttore Scientifico Fondazione Ricerca Fibrosi Cistica

Recentemente è stato approvato da parte delle autorità del farmaco statunitensi (FDA) e dell'Unione Europea (EMA) l'uso di Trikafta/Kaftrio per la terapia di pazienti FC con età > 12 anni e con almeno una mutazione F508del in uno degli alleli del gene CFTR. La notizia rappresenta un vero e proprio passo in avanti in un processo che sta cambiando la storia della malattia.

**Il rallentamento della malattia grazie ai nuovi farmaci modifica le priorità di ricerca in FC**

Questi nuovi farmaci sono in grado di **potenziare la proteina** resa malfunzionante da mutazioni che riducono l'apertura di questo canale localizzato sulla membrana della cellula (**potenziatori** quali ivacaftor) o di

**promuoverne la veicolazione** alla membrana plasmatica riducendone l'accumulo e la degradazione all'interno della cellula (**correttori** quali lumacaftor, tezacaftor o elexacaftor).

L'identificazione di potenziatori e correttori ha fornito la cosiddetta *prova-del-principio* che aumentando la funzione di CFTR mutata nella FC si migliorano le **condizioni di salute dei pazienti**, rilevabili mediante valutazioni obiettive (FEV1, test del sudore, numero di esacerbazioni e altre) e soggettive (qualità della vita percepita).

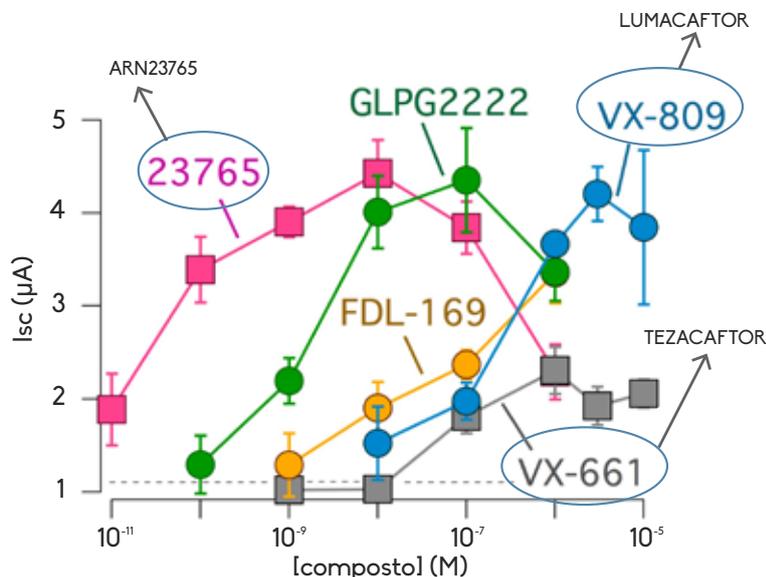
Questa prova modifica sostanzialmente le priorità della ricerca in FC. Di fatto stabilisce che, indipendentemente dalla complessità della patologia che si sviluppa nel corso degli anni, un miglioramento della funzione di CFTR è accompagnata, almeno nel polmone, da un **rallentamento del danno**.

### La corsa per identificare nuovi farmaci in grado di correggere CFTR con mutazione F508del

Negli scorsi anni FFC ha raccolto tempestivamente la sfida per identificare nuovi farmaci, dando priorità a ricerche indirizzate a migliorare

la funzione di CFTR con mutazione F508del, quella a più alta frequenza. Il **progetto strategico pluriennale** chiamato *Task Force for Cystic Fibrosis* (TFCF), coordinato da Tiziano Bandiera (IIT, Istituto Italiano di Tecnologia, Genova), Luis Galletta e Nicoletta Pedemonte (IRCCS, Istituto Giannina Gaslini, Genova), ha portato all'identificazione di una **nuova molecola** ARN23765 (1). ARN23765 riesce a correggere il trasporto di cloro in cellule omozigoti per la mutazione F508del a concentrazioni 100-1000 volte inferiori di quelle necessarie usando altri correttori (Figura 1).

**Dal progetto Task Force for Cystic Fibrosis un nuovo correttore da combinare con altre molecole**



**Figura 1.**

La figura mostra a quali concentrazioni agiscono vari correttori oggi conosciuti. Il correttore del Progetto FFC TFCF è chiamato ARN23765 (in rosa). In orizzontale sono indicate le concentrazioni del composto (esprese in Unità M); da sinistra a destra le concentrazioni sono crescenti. In verticale è indicata (in µA) la corrente di cortocircuito generata da ogni composto. Questa corrente è indicativa del passaggio dello ione cloruro e quindi dell'aumento della funzione di CFTR in cellule con mutazione F508del/F508del.

Si può vedere come ARN23765 agisca aumentando la funzione di CFTR a concentrazioni 100-1000 volte inferiori rispetto agli altri correttori in uso clinico (VX-809 e VX-661) o sperimentali. La figura è tratta dal lavoro del gruppo Bandiera - Galletta - Pedemonte (vedi testo e riferimento bibliografico 1).

Il progresso di questi studi è proseguito fino alla caratterizzazione di diversi aspetti relativi all'*Assorbimento-Distribuzione-Metabolismo-Escrezione* (ADME) di ARN23765. Questi risultati hanno attirato l'attenzione di una solida industria farmaceutica che ha siglato un accordo preliminare con FFC e gli enti di appartenenza degli scopritori di ARN23765 per completare gli studi di ADME e tossicità. L'obiettivo è iniziare la **sperimentazione clinica di ARN23765** come farmaco, da usare anche in combinazione con altre molecole.

È importante notare che ARN23765 è "la migliore" di un gruppo di molecole che correggono CFTR mutata ma, tra queste, possono esserci **composti analoghi** che, pur avendo un effetto inferiore *in vitro*, hanno caratteristiche migliori come potenziali farmaci.

Il team di ricercatori dell'industria farmaceutica coinvolta ha grande fiducia nella possibilità di usare queste molecole **in terapia**. Nei prossimi mesi avremo un riscontro sul possibile uso di ARN23765 come farmaco attraverso studi finanziati esclusivamente da questa industria. FFC intende favorire al massimo lo sviluppo dei lunghi studi che hanno portato alla scoperta di ARN23765 e analoghi ed è pronta a dedicare ulteriori risorse per far arrivare uno di questi composti alla sperimentazione clinica.

**Oltre Kaftrio per identificare una classe di composti ad azione sinergica e migliorativa dei correttori già in uso**

La ricerca di farmaci in grado di correggere la mancata veicolazione di CFTR F508del alla membrana esterna della cellula ha stabilito il principio che l'uso combinato di mole-

cole in grado di agire **in modo complementare** (perché probabilmente si legano a regioni diverse di CFTR) è molto più efficace dell'uso di ciascuna molecola separatamente. Questa nozione ha stimolato ricerche tese a identificare altre molecole in grado di espletare questa azione complementare.

Con l'obiettivo di identificare una nuova classe di composti in grado di agire in sinergia con correttori già in uso nell'uomo, FFC sosterrà un **progetto strategico** coordinato da Paola Baraja (Università di Palermo) e Luis Galletta (TI-GEM) che estende studi già finanziati da FFC e che, sulla base dei dati già ottenuti, fa sperare di procedere fino all'identificazione di un **nuovo farmaco** da usare in combinazione con vecchi o nuovi correttori (2).

La veicolazione di CFTR F508del alla membrana dipende dalla combinazione di diversi fattori che includono non solo la facilitazione di una **corretta conformazione**, ma anche la sua modificazione con processi successivi alla sintesi e alla degradazione da parte di proteasi. FFC ha sempre considerato con attenzione, e continuerà a farlo, progetti di ricerca finalizzati a caratterizzare in dettaglio questi processi, potenzialmente in grado di identificare nuovi bersagli farmacologici.

### La riparazione di CFTR con mutazioni diverse da F508del per arrivare a una cura per tutti

In medicina, ma non solo, si ha la tendenza ad affrontare i problemi che si impongono come più rilevanti (spesso, solo quelli che sono più facilmente risolvibili).

Una mutazione F508del è presente, a seconda delle aree geografiche, nel 50-70% degli alleli mutati ed è quindi comprensibile che molta attenzione sia stata posta a molecole in grado di correggere le conseguenze di questa mutazione. Tuttavia, lo **spettro delle mutazioni CFTR** è molto ampio e comprende mutazioni che alterano la sintesi e la struttura della proteina (alterazione della trascrizione del gene e della processazione dell'mRNA), la sua emivita successivamente alla sintesi, il tempo di permanenza sulla membrana plasmatica.

L'individuazione di strategie in grado di aumentare espressione, struttura ed emivita di CFTR rappresenta certamente una delle prossime sfide che FFC dovrà senz'altro sostenere per arrivare a "una cura per tutti".

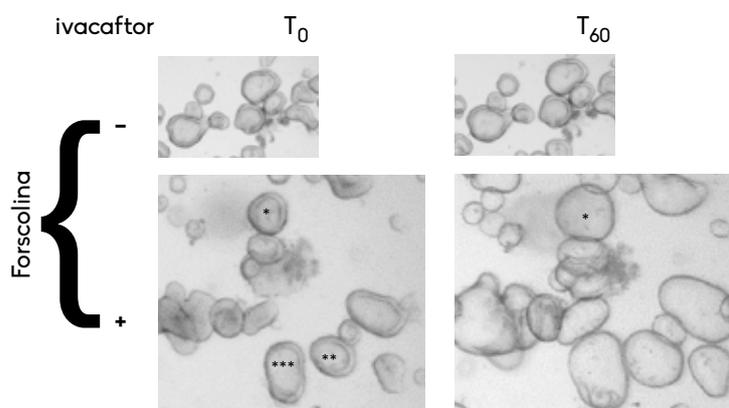
Un punto centrale nello sviluppo di queste strategie sarà quello di disporre di **modelli di studio appropriati** soprattutto nel caso di mutazioni che, per la loro rarità, comporterebbero il prelievo ripetuto di cellule dal paziente da testare *in vitro* con nuovi composti. È questo un aspetto importante di quella che viene definita **medicina personalizzata** e che vale anche per studiare l'effetto di farmaci in grado di agire su mutazioni CFTR frequenti.

Negli ultimi anni sono emerse diverse osservazioni che suggeriscono che si possono prelevare cellule da pazienti, con procedure poco invasive,

**Monociti del sangue, cellule da epitelio nasale, organoidi intestinali come modelli ex vivo per personalizzare i test sui farmaci disponibili**

e valutare l'effetto del farmaco in studio (o già in uso) per la sua capacità di migliorare una funzione CFTR-dipendente. FFC ha valutato e sta valutando in questi ultimi anni diversi progetti che affrontano questo tema.

Gli approcci finora usati possono riassumersi in due gruppi. Il primo è rappresentato dalla **coltivazione di cellule** isolate dalla cavità nasale o da biopsie rettali che possono essere utilizzate più volte in quanto congelabili in azoto liquido e quindi indicate come modello per lo studio di mutazioni rare (3, 4). Queste cellule possono essere coltivate come monostrati adesi a una superficie o in condizioni che consentono la loro organizzazione in strutture tridimensionali, definite *organoidi*. La Figura 2 mostra un esempio di **organoidi** ottenuti da biopsie rettali nella quale si apprezza che l'uso di un classico potenziatore di F508 del determina un aumento del trasporto di cloro e acqua all'interno dell'organoide e di conseguenza un suo rigonfiamento.



**Figura 2.**

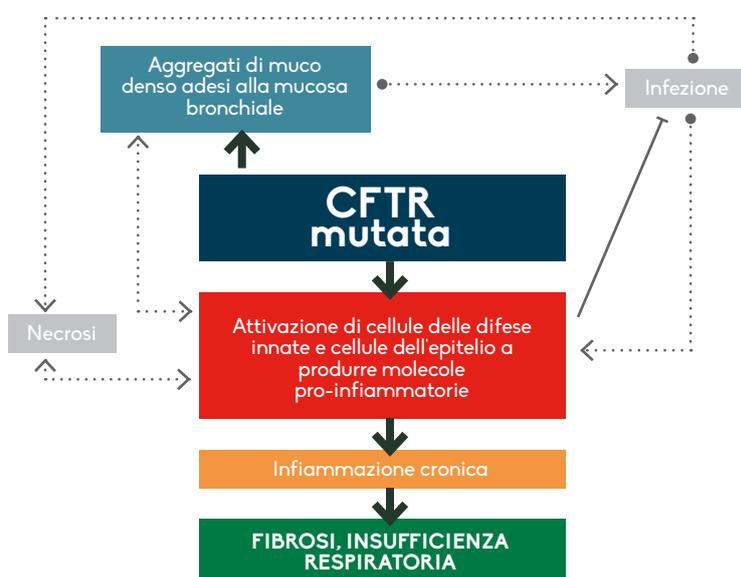
Organoidi derivati da biopsia rettale di un paziente con genotipo W57G/A234D sono stati trattati con forscolina (generico attivatore del canale CFTR) + il potenziatore ivacaftor. Le immagini mostrano il rigonfiamento dopo 60 minuti, indice di efficacia del farmaco nel correggere il difetto in presenza di questa rara variante di CFTR. Immagine gentilmente fornita da Claudio Sorio, Università di Verona.

Il secondo gruppo di metodologie per condurre studi cosiddetti *ex vivo*, vale a dire su cellule isolate da uno specifico paziente o donatore, è rappresentato dall'isolamento di **cellule circolanti nel sangue**. Sia i monociti, una popolazione di cellule leucocitarie (i globuli bianchi), che i globuli rossi e le piastrine esprimono CFTR. Indagini sui monociti dimostrano che la funzione di CFTR mutata può essere studiata sia con metodi messi a punto per le cellule epiteliali sia con una metodica di più semplice utilizzo (5).

## Alterazioni del muco, infezione e infiammazione: un circolo vizioso alla base del danno polmonare

Il ridotto trasporto di cloro/bicarbonato e acqua sulla superficie delle vie aeree, determinato da CFTR con alterazioni di funzione, induce un ispessimento, un aumento di viscosità e un'acidificazione del liquido che scorre su di esse e che è spinto dal battito ciliare verso l'esterno. Il **ristagno di questo muco denso** sulla superficie delle vie aeree o la sua permanenza nel lume delle ghiandole sottomucose costituisce un microambiente ottimale per la crescita di particolari microrganismi. Le **infezioni** che derivano da questo processo, assieme alle molecole liberate da cellule necrotiche e dalle cellule epiteliali che esprimono CFTR mutata, innescano un **processo infiammatorio prolungato** che è responsabile dell'evoluzione della malattia verso la fibrosi e l'insufficienza polmonare (Figura 3).

C'è ancora bisogno di ricerca di mucolitici più efficaci, di strategie antibatteriche efficienti, di antinfiammatori mirati



**Figura 3.**

Accumulo di muco, infezione e infiammazione costituiscono un circolo vizioso che porta alla fibrosi e all'insufficienza polmonare (vedi testo). Farmaci che aumentano la secrezione di acqua (e la riduzione di acidità) aumentando la funzione di CFTR, associati ad efficaci fluidificatori del muco favoriscono la sua rimozione, modificando il microambiente polmonare e ostacolando l'impianto di microrganismi. Molecole liberate da cellule necrotiche e di origine batterica, nonché le alterazioni indotte dalla CFTR mutata in cellule epiteliali bronchiali innescano un processo infiammatorio cronico che esita nella fibrosi e insufficienza polmonare. Come indicato a destra con la linea troncata, l'infiammazione è essenziale per combattere le infezioni, ma se eccessiva e prolungata induce effetti dannosi.

Una nuova DNasi per fluidificare il muco

È attualmente forzato pensare che questo circuito vizioso possa essere totalmente interrotto con una ripresa (che dovrebbe essere totale) della funzione di CFTR indotta dagli attuali e futuri farmaci. Tutti i farmaci in grado di ridurre la viscosità del muco, uccidere i microrganismi patogeni e inibire il processo infiammatorio continueranno a essere importanti nella cura della FC. FFC ha finanziato e continuerà a finanziare le ricerche in questi campi. Con finanziamenti FFC è stata per esempio identificata una **isoforma di DNasi** molto efficace nel degradare il DNA che, per le sue caratteristiche di viscosità, è determinante nel causare precipitati di muco (6); significativamente, gli autori di questi studi stanno lavorando per portare questa DNasi alla sperimentazione clinica.

**L'infezione batterica**, classicamente dovuta a *Pseudomonas aeruginosa* ma non solo, rappresenta un aspetto centrale della patologia. Un recentissimo studio ha evidenziato che nel polmone dei pazienti FC si possono formare colonie miste, e difficilmente eradicabili, di un micobatterio non tubercolare (*Mycobacterium abscessus*) originariamente acquisito dall'ambiente dove sopravvive. Nel polmone, *M. abscessus* va incontro a una sorta di adattamento e selezione di cloni con la capacità di **resistere agli antibiotici** e soprattutto di trasferirsi reciprocamente geni che codificano per fattori di resistenza (7). Questa scoperta, se non fosse bastata la drammatica esperienza del Covid-19, ricorda all'uomo che i microrganismi ci precedono nella scala evolutiva, hanno acquisito meccanismi molto sofisticati di sopravvivenza e, benché in molti casi convivano bene con noi (contando tutte le cellule che ci sono nel corpo umano, 10 sono nostre e 90 sono batteri), possono farci molto male. Soprattutto in condizioni in cui le difese biologiche anti-infettive sono ridotte, come nel microambiente polmonare FC.

Un apparentemente "irrisolvibile" problema che da anni si pone nell'ambito delle cure FC è rappresentato dall'**uso degli anti-infiammatori**. L'infiammazione è classicamente definita come una spada a doppio taglio: da una parte è essenziale nelle difese biologiche anti-infettive, dall'altra induce danno ai tessuti. Per esempio, le infiammazioni cosiddette sterili, basate

su meccanismi auto-immunitari (come l'artrite reumatoide) o sull'esposizione prolungata a polveri di silicio (nel polmone), inducono severi danni tessutali. L'uso di anti-infiammatori è stato tradizionalmente considerato con cautela proprio per la preoccupazione di **diminuire le difese anti-infettive**. Tuttavia, un recente articolo sulle sperimentazioni cliniche in pazienti FC trattati con alte dosi di ibuprofene ha portato gli autori a concludere che *"Alte dosi di ibuprofene possono rallentare la progressione della malattia polmonare in persone con fibrosi cistica, soprattutto nei bambini. Osservazione che suggerisce che le strategie per modulare l'infiammazione polmonare possono essere di beneficio nelle persone con fibrosi cistica"* (8). Questa analisi fornisce una sorta di prova-del-principio che inibire l'infiammazione può essere di grande utilità. Perciò, soprattutto nel contesto dell'uso dei nuovi farmaci che agiscono su CFTR, la terapia con anti-infiammatori acquisisce un forte razionale.

Non ci sono ancora farmaci ideali per ridurre efficacemente l'infiammazione

Quale anti-infiammatorio usare? Questo è sicuramente un tema importante da affrontare in quella che è una nuova **fase della ricerca clinica** (vedi dopo). Vi sono molti farmaci anti-infiammatori: alcuni usati da tempo, come l'ibuprofene, altri che rientrano in nuove strategie di controllo dell'infiammazione (9), altri infine ancora sperimentali, tra i quali molecole derivate da studi finanziati da FFC (10). FFC continuerà a finanziare ricerche in questo campo.

### Una nuova stagione per la ricerca clinica e le strategie di finanziamento della ricerca FFC

Finora i clinici hanno cercato di curare principalmente le conseguenze di CFTR con alterazioni di funzione. Si è da poco aperto un nuovo capitolo nelle cure, quello dei farmaci che vanno alla radice del problema e agiscono **direttamente sulla funzione di CFTR**.

La prima domanda che si impone, e alla quale solo i clinici possono dare una risposta, è se questi **farmaci modulatori** in uso da poco danno realmente quello che promettono. FFC ha ritenuto di affrontare subito

I nuovi farmaci modulatori di CFTR danno realmente quello che promettono?

questa questione. A breve partirà un progetto strategico multicentrico, finanziato da FFC e coordinato da Cesare Braggion componente della Direzione Scientifica FFC, che valuterà su larghi numeri di malati con quadro polmonare severo gli **effetti del modulatore Kaftrio**. Lo studio affronterà non solo i benefici ma anche gli eventuali **effetti collaterali** che i trial clinici formali, di limitata durata, potrebbero non aver evidenziato.

Vi sono molti aspetti della cura che possono essere affrontati in modo nuovo solo con la ricerca clinica. Su tutti l'associazione tra farmaci modulatori, anti-infiammatori e antibiotici.

Le nuove prospettive terapeutiche in FC impongono certamente una riflessione sulle forme di finanziamento della ricerca.

**La ricerca di base deve continuare perché è su questa che si fondano i risultati positivi che oggi stiamo raccogliendo**

La mia convinzione profonda, derivata anche da un lungo tempo di confronto con Gianni Mastella che aveva molto a cuore questo problema, è che FFC deve proseguire il percorso

iniziato più di vent'anni fa: finanziare progetti provenienti da **ricercatori italiani qualificati** e basati su quella che viene definita ricerca stimolata da un'ipotesi.

I grandi progressi della biomedicina dipendono dallo sforzo di chiarire i meccanismi di funzionamento e alterazione patologica di una cellula o di un sistema più complesso di tessuti, organi e organismi. È quello che FFC fa finanziando singoli progetti attraverso il bando annuale. Proprio perché la ricerca costruisce **conoscenze solide**, si verificano a un certo punto le condizioni per affrontare problemi in modo nuovo e integrato tali da richiedere sforzi finanziari maggiori.

È quello che FFC sta facendo con l'identificazione e il supporto a **progetti strategici**.

Tra questi, TFCF di cui abbiamo già visto i risultati e il progetto su una nuova classe di correttori coordinato da Paola Barraja e Luis Galletta.

In ambito clinico, oltre a quello su Kaftrio di Cesare Braggion, un altro progetto strategico importante, rilevante nel contesto della percezione della malattia, è quello sul **test per il portatore sano di fibrosi cistica** coordinato da Carlo Castellani, anch'egli parte della Direzione Scientifica FFC.

Il progetto prevede la realizzazione di strumenti informativi adatti ai tempi e, in parallelo, lo studio da parte di un gruppo multidisciplinare di esperti dei costi/benefici (*Health Technology Assessment*) di un eventuale programma su larga scala da fornire alle autorità sanitarie per promuovere decisioni in merito.

Investimenti in progetti strategici si imporranno nel momento in cui i progressi di una ricerca saranno così avanzati da richiedere una forte spinta per arrivare alla **sperimentazione clinica** di un nuovo farmaco o per studiare l'effetto su pazienti FC di farmaci già in uso o "ripresizionati" (usati in altre patologie) che richiedono il coinvolgimento di diversi Centri.

Spero si colga da queste note che l'uso clinico di farmaci modulatori non toglie terreno alla ricerca in FC ma le offre nuove e interessanti sfide. FFC cercherà di dare un contributo forte affinché queste sfide vengano raccolte e vinte. Ci piacerebbe condividerle con Gianni Mastella, che ha fatto tanto per creare le condizioni perché ciò avvenga. Secondo una ferrea regola della natura ci ha passato il testimone. Cercheremo di non lasciarlo cadere.

**Il progetto Test per il portatore sano di fibrosi cistica promuove la prevenzione e lo studio costi/benefici di un programma di diffusione estesa del test**

## Riferimenti bibliografici

1. Pedemonte N. et al., *Sci. Adv.* 2020; 6: eaay9669.
2. Spanò V. et al., *Molecules*. 2021, 26:1275.
3. Cuyx S. et al. *Thorax*. 2021 Apr15:thoraxjnl-2020.
4. Terlizzi V. et al. *MolGenetGenomicMed*. 2021,13:e1656.
5. Sorio C. et al., *Am J Respir Crit Care Med*. 2016, 193:1123.
6. Delfini et al., *Biomolecules*. 2021, 11:410.
7. Bryant J.M et al. *Science*. 2021, 372 eabb8699.
8. Lands L.C. and Stanojevic S. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2019, Issue 9; Art. No.: CD001505.
9. Costantini C. et al., *Eur. J. of Med. Chem.* 2020, 206:112717.
10. Tamanini et al. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2011, 300:L380.



# CHI SONO E COME STANNO I MALATI DI FIBROSI CISTICA OGGI IN ITALIA?

## La fotografia della realtà attraverso il registro-malattia RIFC

**Marco Salvatore**

*Direttore Struttura Interdipartimentale Malattie Rare Senza Diagnosi, Centro Nazionale Malattie Rare - Istituto Superiore di Sanità*

I registri di patologia sono uno strumento fondamentale per ampliare le conoscenze relative a diagnosi, trattamenti ed esiti clinici di una determinata malattia. Le informazioni di **natura clinica e demografica** in essi raccolte rappresentano un aiuto fondamentale per migliorare la definizione clinica dei pazienti.

Nel campo delle malattie rare o comunque non frequenti, a causa dell'esiguità dell'incidenza e della prevalenza di queste malattie, i registri rappresentano uno strumento ancor più essenziale per la ricerca scientifica, soprattutto quella riguardante la messa a punto di studi e trials clinici.

### Il Registro Italiano Fibrosi Cistica

Il Registro Italiano Fibrosi Cistica (RIFC) nasce nel 1988 presso l'Istituto di Statistica Medica e Biometria della Facoltà di Medicina e Chirurgia dell'Università degli Studi di Milano.

Dal 2004 i casi incidenti dei pazienti con fibrosi cistica (FC) vengono invece raccolti e gestiti all'**Istituto Superiore di Sanità** (ISS, Roma) a seguito

**Il RIFC è stato uno dei primi registri nazionali nel mondo per la FC**

dell'accordo di collaborazione scientifica fra ISS (Centro Nazionale Malattie Rare), i Centri di Riferimento Regionali e i Servizi di Supporto per la FC (istituzionalmente riconosciuti dall'articolo n. 3

della legge 548/93), l'Unità operativa complessa Fibrosi Cistica dell'Ospedale pediatrico "Bambino Gesù", la Società Italiana per lo studio della Fibrosi Cistica e la Lega Italiana Fibrosi Cistica ONLUS. L'accordo regola il flusso dei dati verso il RIFC da parte di tutti i centri FC e stabilisce le modalità mediante le quali ricercatori, operatori dei centri, aziende farmaceutiche e associazioni di pazienti possono accedere ai dati in esso contenuti.

Gli **obiettivi specifici del RIFC** sono sovrapponibili a quelli di molti registri di patologia: i) analizzare le caratteristiche clinico-epidemiologiche della FC; ii) contribuire all'identificazione delle necessità assistenziali sul territorio nazionale; iii) contribuire alla programmazione sanitaria; iv) confrontare i dati collezionati a livello nazionale con quelli raccolti a livello europeo, a seguito di una ormai consolidata collaborazione con il registro europeo della Società Europea FC.

**I registri-malattia sono strumenti importanti per la programmazione sanitaria e la ricerca scientifica**

I dati dei pazienti censiti nel RIFC sono collezionati previo ottenimento presso ciascun centro FC di uno specifico **consenso informato**, aggiornato a febbraio del 2020 e conforme alle recenti novità in tema di *privacy* adottate con il regolamento GDPR (Regolamento UE 2016/679 del Parlamento Europeo e del Consiglio).

Ogni anno i rappresentanti del Comitato Scientifico e del Comitato Tecnico del RIFC elaborano i) un dettagliato rapporto sui dati collezionati, principalmente rivolto a clinici e ricercatori impegnati nella gestione clinico-scientifica della FC; ii) un *report-at-a-glance* ossia una sinossi delle principali informazioni descritte nel ben più ampio rapporto annuale, principalmente rivolto ai pazienti; iii) uno o più articoli scientifici su tematiche specifiche (es. gravidanze, mutazioni particolari, ...). Tutte queste informazioni sono puntualmente pubblicate sul **sito monotematico di riferimento** del RIFC: [www.registroitalianofibrosicistica.it](http://www.registroitalianofibrosicistica.it).

### Le caratteristiche dei malati FC dai dati RIFC

Nel 2018, **ventinove centri FC** hanno inviato al RIFC i dati relativi ai pazienti da loro seguiti. Il numero dei pazienti censiti nel RIFC (1) è aumentato progressivamente dal 2010 passando da 4159 a 5501 (+1342 ulteriori pazienti).

Dal 2010 al 2018 si è registrato un aumento costante dell'età **media** dei pazienti FC (17 anni nel 2010, 21,2 anni nel 2018). La prevalenza di FC, cioè il numero di casi nella popolazione, stimata nel 2018 è di 9,2 malati ogni 100 000 residenti. Il 51,65% dei pazienti è di sesso maschile e la quota maggiore di pazienti affetti da FC è compresa tra 7 e 35 anni. Per quanto riguarda l'età, il 57,6% dei pazienti censiti nel 2018 ha più di 18 anni: in particolare, il 35,2% dei pazienti ha un'età compresa fra 18 e 35 anni mentre il 22,4% ne ha più di 36. Si conferma infine la comparsa della popolazione FC nella sesta e settima decade di vita (Tabella 1).

**In Italia, la maggior parte delle persone con FC ha più di 18 anni**

**Tabella 1: Sintesi delle principali caratteristiche dei malati FC. Dati RIFC, 2018**

Caratteristiche (2018)	Totale
Pazienti inclusi nel RIFC con diagnosi di FC (N)	5501
Età mediana dei pazienti (in anni)	21,2
Età mediana alla diagnosi (in mesi)	3,8
Prevalenza dei pazienti di età ≥18 anni (%)	57,6
Prevalenza dei pazienti con almeno una mutazione F508del su un allele (%)	75,2
Nuove diagnosi nel corso del 2018 (N)	142
Pazienti deceduti nel corso del 2018 (N)	38
Età mediana al decesso (in anni)	33,2
Età mediana al decesso escludendo pazienti trapiantati (in anni)	35,8
Pazienti che hanno subito un trapianto bi-polmonare nel corso del 2018 (N)	35

Per quanto riguarda le diagnosi, il 66,7% dei pazienti riceve una **diagnosi di FC** prima del compimento del secondo anno di vita: questo dato riflette la sempre più efficiente attuazione dei **programmi di screening neonatale** svolti presso i centri regionali. Tuttavia, è importante tenere in considerazione una quota non trascurabile (18,3%) di diagnosi effettuate in età adulta (> 18 anni). Queste diagnosi "tardive" possono certamente essere imputate alla maggiore sensibilità, da parte della comunità medica, a porre il sospetto diagnostico di fibrosi cistica anche in soggetti adulti con sintomi quali infertilità, isolati sintomi respiratori e familiarità (Report RIFC dati 2017-18, *in press*). Nel 2018 le nuove diagnosi sono state 142; l'incidenza stimata è di 1 caso ogni 5442 nati vivi.

## Frequenza delle mutazioni genetiche di CFTR

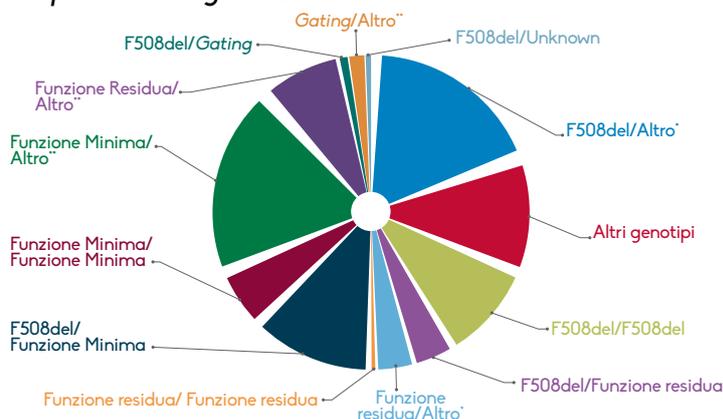
Il RIFC colleziona anche dati relativi alla caratterizzazione genetica dei pazienti. Quasi la totalità dei pazienti (99,8%) è stato sottoposto ad analisi genetica per la definizione delle mutazioni a carico del gene *Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator* (CFTR), responsabile della patologia stessa. Come atteso, la mutazione più frequente è risultata la F508del (44,6%). Tuttavia è importante notare che **in Italia** sono presenti anche altre mutazioni con frequenza significativamente superiore a quella riscontrata nel resto d'Europa come, per esempio, le mutazioni N1303K (5,5%), G542X (4,8%), 2789+5G>A (2,9%) e 2183AA>G (1,9%) (Tabella 2).

**Dopo F508del, la mutazione più frequente è N1303K seguita da G542X**

**Tabella 2. Le prime 10 mutazioni presenti nel RIFC con frequenza allelica ≥0,5% nel 2018**

Mutazione	N	%
F508del	4902	44,65
N1303K	609	5,547
G542X	527	4,801
2789+5G>A	320	2,915
W1282X	210	1,913
2183AA->G	202	1,84
D1152H	195	1,776
1717-1G->A	176	1,603
TG12-T5	170	1,549
3849+10kbC->T	148	1,348

Inoltre, il 16,9% dei pazienti è portatore di almeno una mutazione che conserva una **funzione residua** di CFTR, il 3,3% è portatore di almeno una mutazione che altera la funzione di **gating** e il 20,5% è portatore di almeno una mutazione **stop codon** (Figura 1).

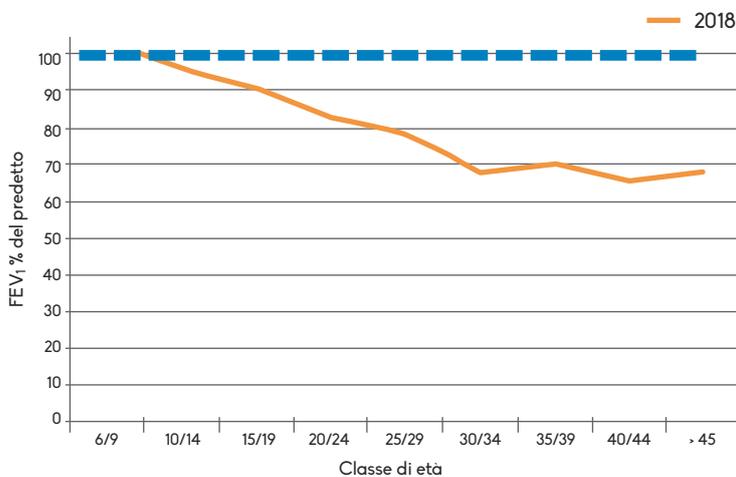


**Figura 1.** Distribuzione delle mutazioni: F508del, funzione residua, funzione minima e **gating** dai dati RIFC 2018.

\* Altro include tutte le mutazioni non F508del e funzione residua  
 \*\* Altro include tutte le altre mutazioni

## Funzione respiratoria, stato nutrizionale, complicanze, trapianti e microbiologia

Per quanto riguarda la **funzione respiratoria**, i valori medi del percento del predetto di FEV<sub>1</sub> (*Forced Expiratory Volume in the first second*) declinano come atteso progressivamente in tarda adolescenza, in accordo con la storia naturale della malattia. Il 90,5% dei soggetti tra 6 e 17 anni ha un valore di FEV<sub>1</sub> superiore o uguale al 70% del predetto, mentre la percentuale dei soggetti pediatrici con funzione respiratoria gravemente compromessa (FEV<sub>1</sub> < 40% del predetto) è inferiore al 2% (Figure 2, 3).



**Figura 2.** Andamento di FEV<sub>1</sub> nel 2018. La linea tratteggiata rappresenta il valore nella popolazione italiana di riferimento di eguale sesso, età e altezza.

I periodi più critici per lo **stato nutrizionale** sono i primi sei mesi di vita e gli anni dell'adolescenza. Nella fascia d'età 12-18 anni, la prevalenza di

maschi malnutriti è maggiore rispetto alle femmine. Nella fascia di età uguale o superiore ai 18 anni, si osserva una maggiore percentuale di malnutrizione nelle femmine, che mostrano un indice di massa corporea non ottimale (36,1%).

Per quanto riguarda le **complicanze** legate alla FC, in pazienti di età inferiore ai 18 anni, l'epatopatia senza cirrosi è stata riscontrata nel 17% dei soggetti. In pazienti con più di 18 anni, le complicanze principali sono l'epatopatia senza cirrosi (nel 31,5%) e il diabete (nel 23,4%).

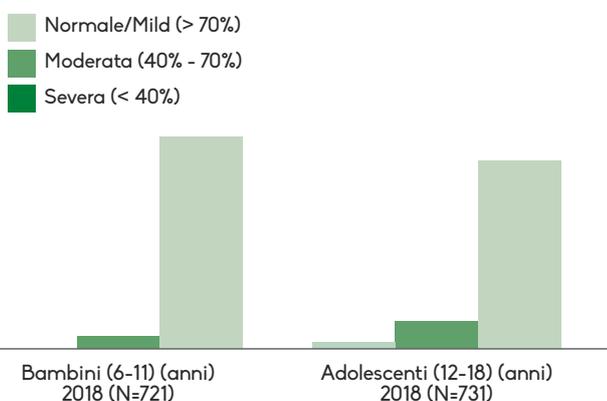
Per quanto riguarda le **infezioni microbiologiche**, la prevalenza di pazienti adulti con infezione cronica da *Pseudomonas aeruginosa* è del 46,3% contro il 10,2% dei pazienti in età pediatrica; la prevalenza di *Staphylococcus aureus*, invece, è pari a 41,6% e a 37,5%, rispettivamente per i pazienti in età adulta e in età pediatrica. Nel 2018 si sono registrati 35 **trapianti bi-polmonari**: l'età mediana dei trapiantati è di 29,1 anni con un range di età al trapianto compreso fra i 7,8 e i 45,6 anni.

## Qualità e quantità di vita delle persone con FC

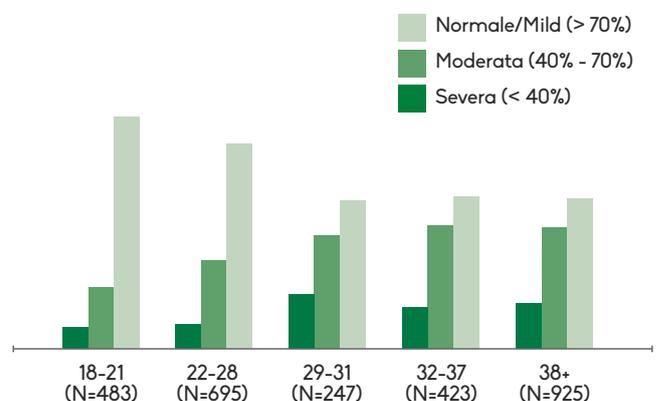
Nel 2018, sono deceduti complessivamente 38 pazienti (20 maschi e 18 femmine); escludendo i pazienti trapiantati, l'**età mediana al decesso** è stata di 35,8 anni. I range di età dei decessi sono compresi tra 7 e 17 anni (2 decessi), 18 e 35 anni (20 decessi) e ≥ 36 anni (16 decessi).

Si conferma, dunque, che la morte in età pediatrica è diventata un evento sempre più raro.

### Pazienti pediatrici e adolescenti (%)



### Pazienti ≥ 18 anni (%)



**Figura 3.** Distribuzione dei pazienti per fasce di compromissione della funzione respiratoria (normale > 70%; moderata 40-70; grave < 40%). A sinistra i pazienti in età pediatrica (6-11) e adolescenti (12-18); a destra i pazienti in età adulta.

A tal proposito giova sottolineare che solo in piccola percentuale la popolazione pediatrica presenta una grave compromissione polmonare, mentre in età adulta la gravità della malattia, nonostante i progressi delle cure, si rispecchia nell'età mediana al decesso.

**L'aspettativa di vita è in aumento**

Come si può evincere da un recente lavoro pubblicato su *Genes* (2), l'età mediana al decesso in Italia è superiore a quella calcolata in altri paesi: per esempio, la mediana fornita dal **registro europeo** è di 29 anni, 30,8 anni in US, 32 anni in UK, 35,6 anni in Australia. Sempre dallo stesso studio è possibile ricavare la stima dell'età mediana di sopravvivenza desunta da 4 diversi registri FC: 44,4 anni in Irlanda, 47,3 anni in UK, 47,4 anni in US e 52,1 in Canada. Questi dati confermano l'aumento progressivo delle **aspettative di vita** del paziente con FC\*.

Il miglioramento progressivo delle condizioni di salute nelle pazienti con FC ha fatto sì che si registri anche l'evento "**gravidanza**": nel periodo 2010-2015 si sono registrate 85 gravidanze, con ripercussioni solo sullo stato nutrizionale delle donne. Gli esiti sono stati soddisfacenti, con frequenza di prematurità in linea con quanto riportato dalla letteratura e con la nascita di bambini di peso adeguato nella maggioranza dei casi (3).

## RIFC e Covid-19

Dal 2020, a seguito della pandemia globale legata al diffondersi del virus SARS-CoV-2, il RIFC monitora attivamente l'andamento di questa infezione in pazienti con FC contribuendo alla stima di **incidenza del virus** sia a livello nazionale che internazionale.

Sotto questo punto di vista, il RIFC ha attivato dal mese di febbraio 2020 un sistema di

monitoraggio basato originariamente sulla raccolta di informazioni nei singoli centri attraverso una scheda anonima. Le informazioni comprendevano il numero di **pazienti FC risultati positivi** al Covid-19, il range della loro età, il sesso, il metodo diagnostico impiegato per confermare l'infezione (test molecolare su tampone naso faringeo, test sierologico) e informazioni circa lo stato di salute del paziente (sintomatico, asintomatico, paucisintomatico, ricovero ospedaliero, ...).

**Nell'ultimo anno il RIFC ha seguito l'andamento di Covid-19 nelle persone FC, raccogliendo dati su positività e sintomatologia**

Nel periodo febbraio - dicembre 2020, **121 pazienti con FC** sono risultati positivi all'infezione; i centri coinvolti sono stati 19 (8 al nord, 4 al centro, 7 al sud). In generale, la maggior parte dei pazienti è risultata asintomatica, paucisintomatica o con minima sintomatologia respiratoria. Due pazienti sono deceduti. I risultati sono stati oggetto di una pubblicazione scientifica sulla rivista *Journal of Cystic Fibrosis* a cura del comitato scientifico e tecnico del RIFC (4).

A partire dal mese di gennaio 2021, a seguito del protrarsi della pandemia, il Comitato scientifico ha deciso di includere nel RIFC una **pagina dedicata** esclusivamente alla raccolta sistematica e standardizzata di dati sui singoli pazienti. I dati raccolti nei primi 5 mesi (1 gennaio - 15 maggio) del 2021 riferiscono di 72 pazienti FC che hanno contratto SARS-CoV-2.

Il RIFC sta partecipando costantemente alle riunioni dei gruppi nazionali e internazionali con la finalità di contribuire alla **gestione della pandemia** attraverso la stima dell'incidenza dei casi che si registrano mese dopo mese.

## Riferimenti bibliografici

1. G. Campagna, A. Amato, F. Majo, G. Ferrari, S. Quattrucci, R. Padoan, G. Floridia, D. Salvatore, V. Carnovale, G. Puppo Fornaro, D. Taruscio, M. Salvatore, Gruppo di Lavoro RIFC. Registro Italiano Fibrosi Cistica (RIFC): Rapporto 2017-2018. *Epidemiol Prev.* 2021. In press.
2. Virginie Scotet, Carine L'Hostis, Claude Férec The Changing Epidemiology of Cystic Fibrosis: Incidence, Survival and Impact of the CFTR Gene Discovery *Genes* 2020; 11(6):589
3. RF Padoan et al., Perinatal outcomes in women with cystic fibrosis: data from the Italian cystic fibrosis registry. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica.* In press..
4. Padoan R, Carnovale V, Salvatore D, Quattrucci S, Taruscio D, Floridia G, Amato A, Ferrari G, Campagna G, Salvatore M. First and second wave of SARS-CoV2 in Italian Cystic Fibrosis patients: Data from Italian Cystic Fibrosis Registry *J Cyst Fibros.* 2021;20(2):372-373

## \*Nota Redazionale

- La **mediana dell'età alla morte**: è un numero reale calcolato prendendo in esame il numero di tutti i soggetti morti in un determinato anno, mettendo le loro età in ordine ascendente e determinando quale età si colloca esattamente nel mezzo.
- La **mediana dell'attesa di vita** (o mediana della sopravvivenza) è una "predizione statistica" di qual è l'età alla quale sopravvive il 50% di una popolazione sufficientemente ampia di malati. È ottenuta con osservazione di lungo periodo, registrando anno per anno quanti sono i viventi e quanti vengono a mancare in quell'anno (*Survival curves* e *Life tables*).



# UNA CURA PER TUTTI: A CHE PUNTO SIAMO?

Indagine su chi oggi dispone di farmaci modulatori e chi è ancora in attesa

**Cesare Braggion**

Responsabile Area Ricerca clinica, Direzione Scientifica FFC

In quest'ultimo decennio la ricerca ha portato alla ribalta nuovi farmaci, i cosiddetti **modulatori della proteina CFTR**, che hanno dimostrato di incidere sulla proteina CFTR difettosa ma anche di essere **efficaci** sui sintomi e **sicuri** nel loro uso (1). Il cloro sudorale è stato utilizzato come biomarcatore: la sua riduzione più o meno marcata indica un ripristino del trasporto del cloro e perciò un effetto diretto sulla proteina CFTR.

Il miglioramento dei parametri della spirometria, la riduzione del numero di esacerbazioni polmonari, la riduzione dei sintomi respiratori, il miglioramento dello stato nutrizionale rappresentano **benefici diretti** per le persone con fibrosi cistica (FC), per le quali questi nuovi farmaci sono stati indicati. Si tratta infatti di molecole indirizzate a correggere il malfunzionamento della proteina CFTR causato da specifiche mutazioni, e perciò sono mutazione-specifici.

## Farmaci modulatori di CFTR con indicazione per mutazioni diverse e diversa efficacia

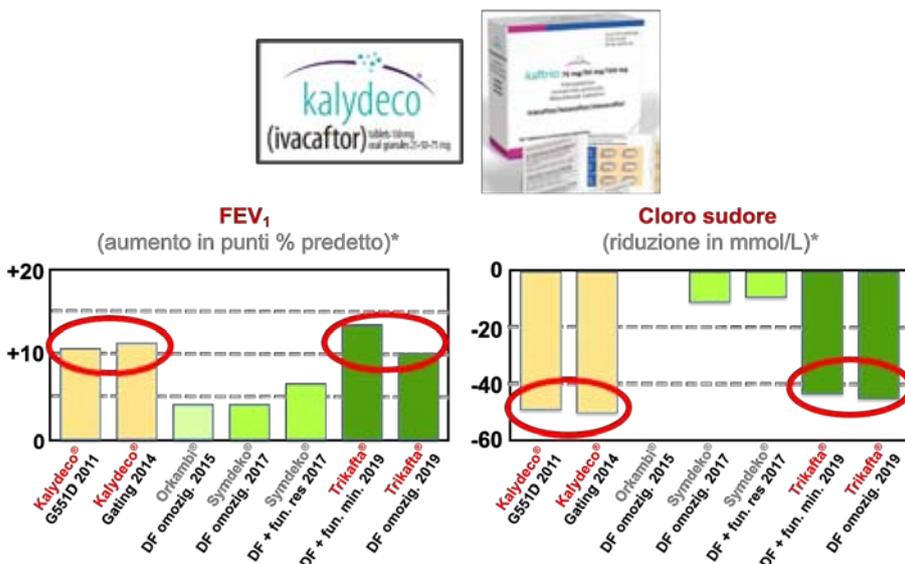
Lo scopo di questa rassegna è quello di rispon-

dere alla domanda: per quali mutazioni e per quante persone in Italia questi nuovi farmaci sono oggi disponibili?

Per definire i raggruppamenti di persone con fibrosi cistica, ai quali corrisponde un determinato genotipo e/o un farmaco modulatore, abbiamo fatto riferimento ai dati del 2018 del Registro Italiano Fibrosi Cistica (RIFC) (2).

Tenuto conto della grande **variabilità delle mutazioni in Italia** e dei cambiamenti nella numerosità dei gruppi di persone che possono intervenire con il passare degli anni, i numeri che descriveranno di seguito i raggruppamenti in base al genotipo sono da considerarsi orientativi. Non ci soffermeremo sui risultati dei trial clinici, condotti con i nuovi modulatori. Tutti i farmaci indicati nella Figura 1 hanno passato il vaglio della ricerca clinica e sono stati **autorizzati**, pur con delle differenze (3, 9), dalle due principali agenzie dei farmaci, quella degli Stati Uniti, la Food and Drug Administration (FDA) e quella europea, l'European Medical Agency (EMA).

Dopo l'autorizzazione di EMA, le diverse agenzie statali europee hanno preso poi decisioni ancor



\*: Le variazioni indicate tengono conto dell'effetto ottenuto con placebo

**Figura 1.**  
**Ricerca clinica: gli studi di fase 3**  
I risultati dei nuovi modulatori: Primavera 2020

Sono riportati i diversi studi con il nome commerciale del farmaco, la/le mutazione/i a cui sono indirizzati e l'anno della pubblicazione dei risultati. Sono state considerate due misure di esito: l'aumento del FEV<sub>1</sub>, (volume espiratorio forzato nel primo secondo), che indica un miglioramento della spirometria e perciò un effetto positivo sulla malattia polmonare, e la riduzione del cloro sudorale, che tende alla normalizzazione. I risultati migliori per i due parametri sono evidenziati: corrispondono agli effetti del Kalydeco nelle persone con FC e una mutazione G551D e con altre mutazioni di classe III (*gating*) e del Trikafta (Kaftrio in Europa) per la mutazione F508del (DF) in omozigosi o associata a una mutazione a funzione minima.

più differenziate, sulle quali non ci soffermeremo, puntando invece l'attenzione sulle decisioni della nostra Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA).

Nella Figura 1 sono indicati, per il FEV1 e il cloro sudorale, i risultati migliori, quelli ottenuti con la somministrazione del Kalydeco e del Kaftrio (3-9). Vedremo di seguito per ciascun farmaco le tappe che hanno portato all'autorizzazione al commercio.

## Il potenziatore Kalydeco

Il Kalydeco è stato il primo farmaco modulatore della proteina CFTR che ha completato l'iter autorizzativo (Figura 1). Si tratta di un potenziatore della proteina CFTR, l'*ivacaftor*: agisce favorendo l'apertura del canale situato sulla membrana cellulare apicale, e perciò il trasporto del cloro e del bicarbonato verso l'esterno delle cellule.

In Italia l'uso di Kalydeco è ristretto a un modesto numero di malati

Il Kalydeco agisce favorendo l'apertura del canale situato sulla membrana cellulare apicale, e perciò il trasporto del cloro e del bicarbonato

Il farmaco corregge il difetto di **9 mutazioni di classe III**, dette anche di *gating* (G551D, G1244E, G1349D, G178R, G551S, S1251N, S1255P, S549N e S549R), caratterizzate proprio dalla mancata apertura del canale ionico.

La prima pubblicazione sui risultati del Kalydeco nelle persone con la mutazione G551D risale al novembre 2011, quella sulle altre mutazioni di *gating* al settembre 2014 (3, 4). L'EMA ha dato la prima autorizzazione per la mutazione G551D il 06/08/2012 e successivamente quella per le altre mutazioni di *gating* e, limitatamente agli adulti, per la mutazione R117H, una mutazione di classe IV che ha come difetto prevalente la ridotta apertura della proteina-canale (10). La **prima autorizzazione** del farmaco da parte di AIFA è dell'aprile 2015.

Attualmente l'agenzia italiana ha stabilito la **rimborsabilità** del Kalydeco a carico del SSN per le persone con FC che hanno una delle mutazioni di *gating* sopra elencate e un'età superiore ai 2 anni e quelle che in età adulta hanno una mutazione R117H (11). In Italia ciò riguarda circa 194 persone, che corrispondono al 3,5% rispetto al totale delle persone italiane con FC (n. 5489 persone con genotipo noto), censite dal RIFC nel 2018 (2).

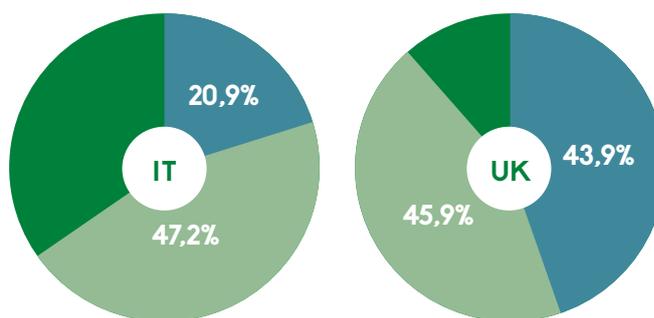
## Dalla combinazione di un correttore e un potenziatore nasce Orkambi

Orkambi è stato il secondo farmaco modulatore studiato per correggere i difetti associati alla **mutazione F508del**, che sono quelli di maturazione e di trasporto della proteina CFTR verso la membrana apicale delle cellule e di apertura del canale, per la quota di proteina che raggiunge questa sede. Si tratta della combinazione del **correttore lumacaftor** e del **potenziatore ivacaftor**, somministrata alle persone con una doppia mutazione F508del di età superiore ai 12 anni nel trial autorizzativo, i cui risultati sono stati pubblicati nel maggio 2015 (Figura 1) (5).

L'efficacia di Orkambi è variabile

L'approvazione di EMA e di AIFA per il farmaco e la fascia di età indicata risale rispettivamente al 01/12/2015 e al giugno 2017 (12, 13). Questa rimane l'indicazione per l'Orkambi, valida a tutt'oggi in Italia: questo farmaco e il Kalydeco sono prescritti attualmente al 18,5% (rispettivamente 819 + 194 = n. 1013) delle persone italiane con FC.

I diagrammi a torta della Figura 2 mostrano la diversa **prevalenza** delle persone con FC, il cui genotipo è caratterizzato da due o una sola mutazione F508del, in Italia e negli UK. La mutazione F508del è la più frequente anche in Italia ed è presente in singola copia nel 68,4% delle persone con FC. Negli UK, in altri paesi del Nord Europa e negli USA questa percentuale è intorno al 90%.



■ Persone FC con F508del/F508del  
 ■ Persone FC con F508del/Altra  
 ■ Persone FC con Altra/Altra

### Figura 2. La mutazione F508del in Italia e Regno Unito

I due diagrammi a torta riportano la percentuale di persone con FC con una doppia o una unica mutazione F508del e quella di persone con mutazioni diverse da F508del. Rispetto agli UK, in Italia la metà delle persone ha una doppia mutazione F508del e la quota di persone con mutazioni diverse da F508del è tre volte maggiore (31,9% rispetto a 10,2%).

Nella tabella 1 è riportata la lista delle mutazioni più frequenti in Italia: la mutazione N1303K è per frequenza la seconda mutazione e riguarda 579 persone; appartiene alla classe II e al momento non è trattabile con farmaci modulatori di CFTR. Sono comuni anche le mutazioni di classe I (G542X, W1282X, 2183AA>G, 1717-1G>A), anche queste "orfane" di farmaci modulatori, e le mutazioni a funzione residua (classe IV e V, D1152H, 2789+5G>A).

#### In Italia

	Classe	N°	%
F508del	2	3744	68,4%
N1303K	2	579	10,6%
G542X	1	497	9,1%
2789+5G>A	5	308	5,6%
W1282X	1	201	3,7%
2183AA>G	1	197	3,6%
D1152H	4	189	3,4%
1717-1G>A	1	171	3,1%

Tabella 1. Frequenza delle mutazioni di CFTR in Italia

### Il correttore Symkevi per F508del in doppia copia o F508del accompagnata da mutazione con funzione residua

L'impiego del farmaco Orkambi nei trial autorizzativi e nella vita reale è stato accompagnato da sintomi respiratori, che tendevano a scomparire dopo i primi giorni di somministrazione.

Un farmaco alternativo all'Orkambi, di uguale efficacia ma senza gli effetti collaterali segnalati e con indicazione nelle persone con doppia mutazione F508del, è risultato il Symkevi che **combina il correttore tezacaftor al potenziatore ivacaftor** (6). Questo farmaco è risultato più efficace rispetto all'*ivacaftor* anche nelle persone con una mutazione F508del e una mutazione a funzione residua (FR) (Figura 1) (7).

Queste ultime mutazioni sono caratterizzate da sufficienza digestiva, compromissione polmonare mediamente più lieve, presenza *in vitro* di una certa attività residua della proteina CFTR e di un aumento del trasporto di cloro > 10% rispetto al valore basale dopo somministrazione di *ivacaftor*.

Secondo i dati del RIFC del 2018, le persone di qualsiasi età con almeno una mutazione FR rappresentano il 16,8% (n. 924); 458/924 (49,6%) sono eterozigoti per una mutazione F508del e una mutazione FR. EMA, ma non AIFA, ha autorizzato nel novembre 2018 il Symkevi nel-

**Symkevi attualmente non è prescrivibile a carico del nostro SSN**

le persone di **età uguale o superiore ai 12 anni** con doppia mutazione F508del o con una mutazione F508del e una mutazione FR nel secondo allele (le mutazioni FR autorizzate da EMA per quest'indicazione sono: P67L, R117C, L206W, R352Q, A455E, D579G, S945L, S977F, R1070W, D1152H, 2789+5G>A, 3272-26A>G, 3849+10kbC>T, 711+3A>G).

Nel **gennaio di quest'anno** l'autorizzazione di EMA ha riguardato le persone con gli stessi genotipi ma di età uguale o superiore ai 6 anni (14).

### Kaftrio, il modulatore più recente

Poiché la risposta clinica all'Orkambi e Symkevi è stata valutata come **modesta** e i due farmaci hanno trovato indicazione solo per le persone omozigoti e non per quelle eterozigoti per la mutazione F508del, i ricercatori hanno studiato un nuovo composto, inserendovi un secondo correttore ad azione diversa da *lumacaftor* e *tezacaftor*.

Il nuovo farmaco, denominato Trikafta negli USA e Kaftrio in Europa, è una **combinazione di due correttori**, il *tezacaftor* e il nuovo *elexacaftor*, con il **potenziatore ivacaftor**.

I dati pubblicati nell'ottobre 2019 hanno evidenziato un beneficio rispetto al Symkevi negli omozigoti per F508del, ma soprattutto che il farmaco era efficace anche quando vi era una sola mutazione F508del e una mutazione a funzione minima nel secondo allele (Figura 1) (8, 9).

Le **mutazioni a funzione minima (FM)** sono quelle che mediante prove *in vitro* si caratterizzano in condizioni basali (senza trattamento) per un trasporto del cloro inferiore al 10% rispetto al normale e per una variazione inferiore al 10% rispetto al valore basale dopo somministrazione di *ivacaftor* (Kalydeco), *tezacaftor* e *tezacaftor-ivacaftor* (quest'ultimo Symkevi).

L'EMA ha autorizzato nell'agosto 2020 il Kaftrio per le persone con FC ed età uguale o superiore ai 12 anni, se omozigoti per la mutazione F508del ed eterozigoti per la mutazione F508del e una mutazione FM (15).

Ad aprile 2021 l'indicazione del Kaftrio è stata allargata anche agli eterozigoti per la mutazio-

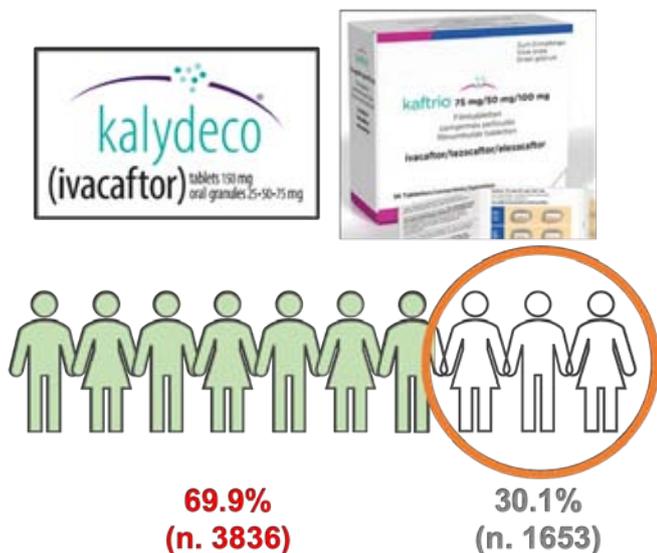
**Kaftrio nei trial clinici risulta più efficace di Orkambi e Symkevi per chi ha doppia copia di F508del.**

**Potrà essere usato da chi ha due copie di F508del o anche una sola copia?**

ne F508del e una qualsiasi mutazione sul secondo allele.

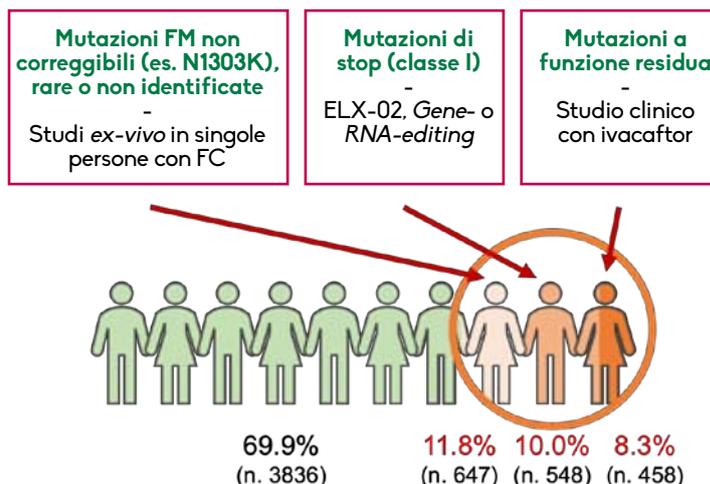
Alla data di stampa della presente brochure, la valutazione di AIFA per la rimborsabilità di Kaftrio è ancora in corso. Tenuto conto della prescrizione del Kalydeco a coloro che hanno una mutazione di *gating* o R117H, nel caso AIFA autorizzasse il Kaftrio per gli omozigoti F508del ed eterozigoti con una mutazione FM sul secondo allele, di età uguale o superiore ai 12 anni, ciò riguarderebbe il 35,4% (n. 1943). Nel caso AIFA intendesse autorizzare anche l'allargamento dell'indicazione agli eterozigoti F508del con una qualsiasi mutazione sul secondo allele di età uguale o superiore ai 12 anni, Kalydeco e Kaftrio potrebbero essere prescritti al 51,5% (n. 2826) delle persone italiane con FC.

La Figura 3 illustra una situazione ipotetica, secondo la quale Kaftrio si considera prescrivibile per chi ha anche una sola copia di F508del e Kalydeco per chi ha una mutazione di *gating* o R117H su un allele e qualsiasi altra mutazione sul secondo allele. Ciò riguarderebbe il 69,9% (n. 3836) della popolazione italiana con FC. Il **risvolto negativo** è rappresentato dal fatto che il 30,1% (n. 1653) delle persone FC non ha una indicazione ad assumere nessuno dei due farmaci, né gli altri modulatori approvati.



**Figura 3. Una mutazione F508del o di *gating* R117H e qualsiasi età**

La figura rappresenta una situazione ipotetica, in cui i due farmaci più efficaci, il Kalydeco e il Kaftrio, sono prescritti alle persone italiane con FC di qualsiasi età, che hanno rispettivamente almeno una mutazione di *gating* (classe III) o R117H, o F508del. Ciò riguarderebbe il 69,9% delle persone censite dal Registro Italiano Fibrosi Cistica nel 2018. Occorre anche osservare il risvolto negativo: un terzo (30,1%) delle persone italiane con FC non dispongono attualmente di un farmaco modulatore della proteina CFTR.



**Figura 4. Una mutazione F508del o di *gating* o R117H assenti qualsiasi età = nessun modulatore prescrivibile**

Sono indicate le future prospettive terapeutiche per il terzo di persone italiane con FC che attualmente non possono disporre di un farmaco modulatore: queste infatti non hanno nel loro genotipo la mutazione F508del o una mutazione di *gating* (classe III) o R117H. Ciò riguarda le mutazioni a funzione residua non associate alla mutazione F508del o a una mutazione di *gating* (8,3%), le mutazioni di classe I, dette anche di nonsenso o di stop (10,0%) e quel gruppo eterogeneo che comprende le mutazioni a funzione minima attualmente non correggibili (per esempio la mutazione N1303K), quelle rare, di cui non si conosce l'effetto sulla proteina CFTR e quelle non identificate (11,8%).

La Figura 4 descrive i tre gruppi di persone FC che compongono questo terzo della popolazione FC italiana, che **non può disporre di un farmaco modulatore**, e le rispettive future prospettive terapeutiche. La stima quantitativa di questi tre gruppi è approssimativa. Il primo gruppo, che corrisponde a circa l'8,3% (n. 458) rispetto al totale della popolazione FC italiana, è rappresentato da coloro che hanno una mutazione FR, associata nel secondo allele a una mutazione diversa da F508del o da una mutazione di *gating* o da una copia di R117H. Vi sono diversi studi che suggeriscono che queste persone si possono giovare della somministrazione dell'*ivacaftor*. La prescrizione di questo farmaco per questo gruppo di persone può essere facilitata in Europa e in Italia da un trial clinico, da organizzare a questo scopo.

Circa il 10% (n. 548) della popolazione italiana ha una mutazione di nonsenso o di stop (classe I), associata a una mutazione diversa da F508del, da una mutazione di *gating* R117H e da una

**Coloro che non hanno nessun farmaco sono circa il 30% del totale**

mutazione FR. Per costoro è in studio il **farmaco ELX-02**, che permette di superare il codone di stop nella sequenza di RNA messaggero, consentendo la sintesi della proteina CFTR (16, 17).

Per questo farmaco promettente sono in corso due studi clinici di fase 2 (NCT 04126473, NCT 04135495). Un'altra prospettiva terapeutica è rappresentata dal **gene editing** o dall'**RNA editing**, che implicano una correzione diretta del DNA o dell'RNA cellulare.

Si tratta di metodiche ancora in fase di studio preclinico (18). Infine, circa il 12,2% (n. 672) della popolazione italiana ha una mutazione FM non correggibile dagli attuali modulatori, come la mutazione N1303K, o una mutazione non identificata (*unknown*) o una mutazione rara, della quale non è nota la funzione e perciò la potenziale terapia con modulatori CFTR. Il quadro è reso particolarmente difficile perchè in questi casi sul secondo allele è presente una mutazione diversa da F508del, da una mutazione di *gating* o R117H, da una mutazione FR o da una mutazione di stop.

In questi casi possono essere impiegati per ogni singola persona con FC gli **studi ex vivo**, che utilizzano le cellule dell'epitelio nasale o gli or-

**ganoidi** intestinali, ricavati rispettivamente dallo spazzolamento (*brushing*) dell'epitelio nasale o dalla biopsia della mucosa rettale, allo scopo di studiare il trasporto di cloro e la sua variazione in rapporto alla somministrazione di diversi modulatori noti o in fase di studio (19).

Anche in Italia diversi gruppi di ricerca stanno utilizzando questi metodi: vi è necessità di standardizzarli e semplificarli e di stabilire la loro capacità di predire l'**effetto clinico**, prima di poterli utilizzare per la prescrizione dei farmaci più efficaci.

In quest'ultimo decennio la **ricerca preclinica e clinica** dei farmaci modulatori ha portato due farmaci efficaci, il Kalydeco e il Kaftrio, all'autorizzazione e immissione in commercio.

Ci attendiamo che la ricerca identifichi quanto prima una soluzione terapeutica anche per quel terzo di persone italiane che attualmente non possono disporre di un farmaco modulatore: questo dovrà essere un **impegno prioritario**.

**La ricerca punta al miglioramento dei test ex vivo per il saggio individuale dei farmaci, affinché una volta perfezionati siano utilizzabili per la prescrizione**

## Riferimenti bibliografici

- Mayer-Hamblett N, Boyle M, VanDevanter D. Advancing clinical development pathways for new CFTR modulators in cystic fibrosis. *Thorax* 2016; 71:454-461
- Giordani B, et al. Registro Italiano Fibrosi Cistica. Report 2017-2018. *Epidemiol Prev* 2021. In Press
- 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; 365:1663-72
- 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
- Wainwright CE, Elborn JS, Ramsey BW, et al. Lumacaftor-ivacaftor in patients with cystic fibrosis homozygous for Phe508del CFTR. *N Engl J Med* 2015; 373:220-231
- Taylor-Cousar JL, Munck A, McKone EF, et al. Tezacaftor-ivacaftor in patients with cystic fibrosis homozygous for Phe508del. *N Engl J Med* 2017; 377:2013-2023
- Rowe SM, Daines C, Ringhausen FC, et al. Tezacaftor-ivacaftor in residual-function heterozygotes with cystic fibrosis. *N Engl J Med* 2017; 377:2024-2035
- Middleton PG, Mall MA, Drevinek P, et al. Elexacaftor-tezacaftor-ivacaftor for cystic fibrosis with a single Phe508del allele. *N Engl J Med* 2019; 381:1809-1819
- Heijerman HGM, McKone EF, Downey DG, et al. Efficacy and safety of the elexacaftor plus tezacaftor plus ivacaftor combination regimen in people with cystic fibrosis homozygous for F508del mutation: a double-blind, randomised, phase 3 trial. *Lancet* 2019; 394:1940-1948
- <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/kalydeco>
- <https://www.aifa.gov.it/-/attivazione-del-registro-kalydeco-24-11-2017->
- <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/orkambi>
- <https://www.aifa.gov.it/-/pubblicazione-schede-di-monitoraggio-registro-orkambi-23-06-2017->
- <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/symkevi>
- <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/kaftrio>
- Leubitz A, Vanhoutte F, Hu M-Y, et al. A randomized, double blind, placebo-controlled, multiple dose escalation study to evaluate the safety and pharmacokinetics of ELX-02 in healthy subjects. *Clin Pharmacol Drug Dev* 2021, doi:10.1002/cpdd.914
- Crawford DK, Mullenders J, Pott J, et al. Targeting G542X CFTR nonsense alleles with ELX-02 restores CFTR function in human-derived intestinal organoids. *J Cyst Fibros* 2021, February 5, doi: 10.1016/j.jcf.2021.01.009
- Maule G, Arosio D, Cereseto A. Gene therapy for cystic fibrosis: progress and challenges of genome editing. *Int J Mol Sci* 2020; 21:3903, doi:10.3390/ijms21113903
- Clancy JP, Cotton CU, Donaldson SH, et al. CFTR modulator therapy: current status, gaps and future directions. *J Cyst Fibros* 2019; 18:22-34



# LA RICERCA SCIENTIFICA È UN MONDO CONNESSO

## La fatica mai finita di ricercare

**Massimo Valsecchi**

Esperto del NITAG (Gruppo tecnico consultivo nazionale sulle vaccinazioni),  
Ministero della Salute

La storia della scienza, e al suo interno la storia della medicina, è costituita da una straordinaria miscela di **errori** e **risultati entusiasmanti**. L'opinione corrente è che l'epoca degli errori sia da relegare in un tempo ormai trascorso e che il futuro sarà radioso e costellato solo da successi: gli eventuali errori saranno da attribuire solo a ignoranza o imperizia sanitaria. Questo modo di valutare la ricerca è un errore pericoloso.

### L'errore come parte del processo scientifico

La consapevolezza che l'errore non è eliminabile dalla realtà, dalla ricerca e dalla pratica medica era ben nota agli antichi tanto che Ippocrate nell'Antica medicina dice *"Perciò il compito è di acquisire una scienza così esatta che permetta di sbagliare poco qua e là: e io molto loderei quel medico che poco sbagliasse"*.

L'attuale illusione dell'**onnipotenza della medicina** è stata alimentata dagli straordinari successi ottenuti nell'ultimo mezzo secolo grazie all'introduzione di modalità diagnostiche e terapeutiche finalmente efficaci contro malattie fino a quel momento incurabili. Tutto questo ha portato all'illusione che il limite dell'insuccesso potesse essere spostato indefinitamente.

Purtroppo questo errore grossolano si ritorce amaramente contro pazienti, medici e medici-

**La medicina non è onnipotente e talvolta può anche fallire**

na tutte le volte che l'obiettivo ricercato viene mancato.

Una prima conseguenza di questo fraintendimento è che da una scienza che non sbaglia ci si può attendere un **fal-**

**limento** solo se uno dei suoi sacerdoti vi si è allontanato per negligenza. La seconda è che il medico che realizza di non poter più guarire il suo paziente tende a considerare conclusa la sua opera e ad abbandonarlo proprio nel momento in cui ha più bisogno di essere curato.

L'analisi etimologica dei termini *curare* e *guarire* e della loro evoluzione nel tempo rivela delle piste di grande interesse nell'aiutarci a capire meglio cosa ci sta succedendo.

**Curare vuol dire prendersi cura del malato, guarire vuol dire sconfiggere una malattia**

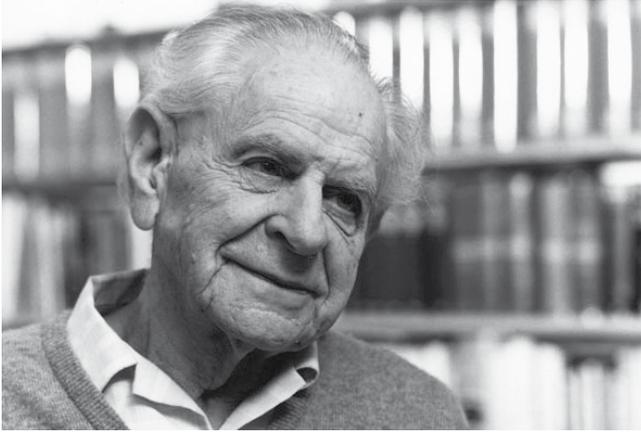
Fino all'inizio dell'Ottocento, il termine **cura** non risulta direttamente associato al concetto di **guarigione**. Curare significava soltanto prendersi cura di una situazione patologica, di una sofferenza.

Il medico curante era il medico che si prendeva cura dei suoi malati, li consigliava, li guidava secondo gli indirizzi ippocratici che assimilano il medico al nocchiero di una nave che deve evitare di naufragare su uno scoglio con un percorso che lo vede in stretta alleanza con l'uomo ammalato.

Successivamente, con la nascita della **medicina "scientifica"**, è emerso un significato di cura come trattamento o guarigione.

Ci si prende cura del malato ma si tratta e si guarisce una malattia specifica e non più un turbato equilibrio che deve essere ricomposto tramite l'alleanza con l'uomo ammalato (1).

Sempre più, quindi, curare è diventato **sinonimo** di guarire e ciò comporta una serie di rilevanti e pesanti conseguenze. Per esempio, se un paziente non è guaribile ne consegue che non è neanche curabile o per lo meno che assisterlo diventa un compito secondario che va sbrigato frettolosamente.



**Figura 1.**  
Karl Popper, uno tra i maggiori filosofi della scienza del XX secolo.

Come ha teorizzato Karl Popper (1902-1994), la ricerca scientifica si snoda in un **percorso continuo**: all'inizio c'è un'ipotesi che viene poi verificata nel reale da una serie di sperimentazioni i cui risultati confermano o smentiscono, in tutto o in parte, l'ipotesi di partenza.

**Il processo scientifico procede per problema-ipotesi-prova**

In Scienza e filosofia di Popper si legge:

- tutta la **conoscenza scientifica** è ipotetica o congetturale.
- l'accrescimento della conoscenza, e specialmente della conoscenza scientifica, consiste nell'**imparare dagli errori** che abbiamo commesso.
- quello che chiamiamo il **metodo scientifico** consiste nell'imparare sistematicamente dai nostri errori.

È un lavoro faticoso e senza fine, durante il quale è inevitabile sbagliare. Anzi, è proprio riflettendo sugli errori compiuti che si pongono le basi per superarli e ipotizzare una teoria più vicina al reale rispetto a quella da cui si era partiti. Alcuni degli errori che commettiamo durante la nostra ricerca sono particolarmente utili e Popper li classifica come "**errori fertili**".

Uno di questi fu compiuto da Ippocrate.

### L'errore fertile di Ippocrate

È difficile porre una data e un evento di inizio per il percorso della medicina scientifica. C'è, però, un largo consenso nell'identificare nell'opera di Ippocrate *Sul male sacro* il primo testo in cui la medicina razionale combatte contro l'ipotesi dell'**origine divina delle malattie**.

*"Circa il male cosiddetto sacro questa è la realtà: per nulla, mi sembra, è più divino delle altre malattie o più sacro, ma ha struttura naturale e cause razionali".*



**Figura 2.**  
Ippocrate, medico greco considerato il padre della medicina.

Con queste parole, Ippocrate abbandona il paradigma interpretativo precedente che faceva risalire a volontà divina le forme di epilessia e introduce un **nuovo paradigma biologico**.

È un passo determinante per la storia della medicina e della scienza in genere. È interessante notare come l'introduzione di questo nuovo modo di pensare il reale contenga, in realtà, errori importanti. Ippocrate dice sull'epilessia *"Essa ha origine come anche altre malattie, secondo l'eredità: se infatti da un flegmatico nasce un flegmatico... che cosa impedisce che, avendo il padre o la madre questa malattia, anche qualcuno dei figli ne sia colpito?"*, *"Gli attacchi insorgono durante il mutamento dei venti..."*.

È evidente che questa diversa visione non ha, di fatto, comportato alcun concreto miglioramento ai pazienti epilettici che erano visitati da Ippocrate rispetto a quelli presi in cura dai suoi colleghi rimasti legati al paradigma precedente.

Mi sembra però molto significativo che la nostra medicina scientifica nasca da una situazione di errore infruttuoso e approda a un nuovo sistema di errori che pur non essendo di concreta utilità per i pazienti di allora ha aperto la strada a errori sempre più concretamente utili. È il concetto di **errore fertile**.

**Alcune scoperte scientifiche sono nate da errori. Di questi errori fertili, è ricca anche la medicina moderna**

Un errore che potrebbe diventare fertile è stato compiuto pochi mesi or sono durante la fase tre della sperimentazione di uno dei **vaccini anti Covid-19**.

In uno dei gruppi di soggetti vaccinati, infatti, è stata somministrata per errore una prima dose di vaccino inferiore rispetto a quella programmata. La sorpresa si è manifestata quando si è notato che questa modalità di vaccinazione

**Il percorso dei vaccini anti Covid-19 ha favorito nuove conoscenze**

induceva, in realtà, una **risposta immunitaria** superiore rispetto alla vaccinazioni praticate con le due dosi piene.

Questo risultato non è intuitivo ed è difficile da spiegare: in genere, la risposta immunitaria è tanto più elevata quanto maggiore è la dose di antigene somministrata.

Questo paradosso, generato da un errore involontario, ha aperto una nuova prospettiva di indagine che, probabilmente, ci aiuterà a capire meglio il ruolo delle **tecnologie** alla base di alcuni vaccini.

### La storia dei vaccini

In questo secondo anno di pandemia da Covid-19, una breve storia delle vaccinazioni aiuta a riflettere e a capire quanto sia complicato ed entusiasmante lo sforzo umano di capire e modificare il reale.

La storia ufficiale delle vaccinazioni (almeno per quanto riguarda il Mediterraneo) **inizia nel 1700**.

**La storia delle vaccinazioni inizia in un bazar di Costantinopoli nel 1700**

La moglie dell'ambasciatore inglese a Costantinopoli, Lady Mary Wortley Montagu, osservò che nel bazar le donne circasse usavano intingere uno spillone nelle pustole di un bambino leggermente colpito dal **vaiolo** e, con lo stesso spillone, infettavano

un piccolo sano per procurargli una forma lieve di malattia che lo avrebbe preservato dalla forma mortale di vaiolo.

Lady Montagu fece inoculare la propria figlia nel 1721 e ne dette notizia ai suoi amici europei. Ne abbiamo notizia nelle Lettere Filosofiche di Voltaire.

Si trattava, in realtà, di una **inoculazione** (o



**Figura 3.**

Lady Mary Wortley Montagu, scrittrice, poetessa e intellettuale inglese. Viene considerata una figura chiave per la diffusione dei vaccini in Occidente (Credits: Wellcome Library, London).

innesto) di materiale infetto da un soggetto a un altro con rischi clinici che oggi ci farebbero inorridire. Ma fu comunque un inizio, faticoso, pericoloso, incerto, di un percorso che ci avrebbe condotto a una delle tecniche più utili della storia della medicina e dell'umanità.

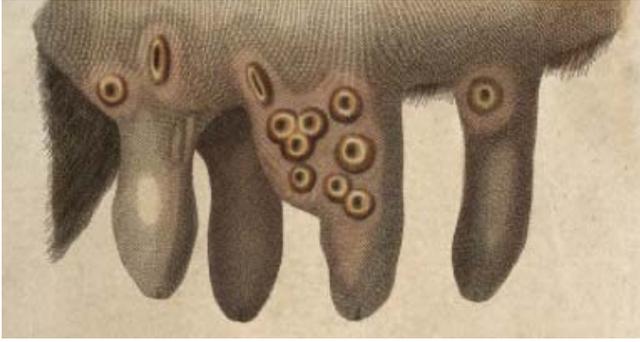
Proseguendo questa storia, vediamo che il passo successivo fu compiuto **in Inghilterra a fine Settecento** in un periodo in cui il vaiolo ebbe un incremento veloce e allarmante in tutta Europa.

**E continua con le vacche inglesi affette dal vaiolo bovino**

Tra i malati, una persona su sei moriva.

L'osservazione che i **mungitori** che si contagiavano dalle pustole delle mammelle delle vacche affette dal vaiolo bovino diventavano immuni al vaiolo umano indusse Edward Jenner, medico inglese nato nel 1749, a riprodurre questo fenomeno infettando volontariamente con le pustole di una vacca (da cui il nome vaccino) alcuni soggetti.

**La parola vaccino deriva dagli studi di E. Jenner sulle vacche**



**Figura 4.**

Qui sopra figura tratta dal testo *Osservazioni pratiche sull'uso del vajuolo vaccino* di Luigi Sacco (1803). A destra statua di Edward Jenner che vaccina contro il vaiolo il figlio del giardiniere (Credits: Wellcome blog post).



Da questo esperimento nacque la possibilità di effettuare vaccinazioni di massa contro il vaiolo. L'ultimo caso di vaiolo contratto in natura è stato diagnosticato in Somalia il 26 ottobre 1977. Il vaiolo è l'unica **malattia eradicata** nella storia dell'umanità.

Con la vaccinazione contro il vaiolo inizia effettivamente la storia delle vaccinazioni che si sviluppano impetuosamente nell'Ottocento.

**L'esistenza dei microrganismi viene scoperta solo a fine Ottocento**

Va tenuto conto che fino a questo momento la pratica vaccinale si era sviluppata su una base teorica del tutto empirica dato che la **presenza di microrganismi** resta ignota fino all'ultimo

ventennio dell'Ottocento quando Robert Koch identifica, nel 1882, il bacillo tubercolare.

Sulla base della nuova teoria infettivologica e delle possibilità fornite da un nuovo utilizzo del microscopio, vennero messi in cantiere vaccini contro le più pericolose malattie infettive. Purtroppo questo poderoso tentativo è riuscito a dare risultati positivi solo verso alcuni di questi morbi.

## I diversi tipi di vaccini

Nella formulazione dei vaccini sono state seguite, nel tempo, strategie diversificate e sempre più raffinate. Tra le tipologie di vaccini in uso ricordo:

- **i vaccini con virus vivi ma resi meno virulenti (attenuati).** Ne sono esempi il vaccino contro la poliomielite (Sabin, 1954), il vaccino contro il morbillo e il vaccino contro la febbre gialla.

- **i vaccini con organismi inattivati.** Si ottengono trattando i patogeni in modo da rendere impossibile la loro replicazione. Ne sono esempi il vaccino antipoliomietico (Salk, 1954), il vaccino antinfluenzale, il vaccino anticolerico e il vaccino antiepatite A.
- **i vaccini a subunità.** Sono composti da antigeni purificati, parti di essi o da tossine prodotte dai microrganismi patogeni. Gli antigeni sono particelle (di virus o batteri) in grado di attivare il sistema immunitario e la produzione di anticorpi. Ne sono esempi il vaccino antitetanico e quello antidifterico.
- **I vaccini costituiti da polisaccaridi capsulari (componenti della capsula batterica) purificati.** Ne sono esempi il vaccino contro lo pneumococco e il vaccino contro il meningococco. Anche il vaccino anti pertosse, spesso somministrato insieme a quelli contro la difterite e il tetano (vaccino DTP), è un esempio di vaccino costituito da un piccolo numero di proteine purificate dai batteri.
- **vaccini con antigeni sintetici.** Il primo vaccino con antigeni ricombinanti a essere stato approvato per l'uomo è stato il vaccino per l'epatite B.

Il vaccino anti HPV, efficace contro il virus del papilloma umano, è composto da **particelle simil-virali** note con il nome di *virus-like particles*. Nonostante tutti questi sforzi non si è ancora riusciti ad avere un vaccino efficace contro la **tubercolosi** né contro la **malaria** né contro il **virus dell'AIDS**. Questo sottolinea come la strada della ricerca sia ardua e costellata di amare delusioni.

**I vaccini anti Covid-19 si basano su tecnologie nuove rispetto ai vaccini tradizionali**

Per i vaccini contro il Covid-19 vengono seguite strade nuove. Quella più interessante riguarda i cosiddetti **vaccini a RNA messaggero**, che prevedono l'iniezione dell'informazione genetica necessaria alla produzione di una proteina di superficie del virus SARS-CoV-2.

Questa proteina si chiama *spike* e viene usata dal virus per penetrare nelle cellule del nostro organismo e riuscire così a moltiplicarsi.

Una volta prodotta, la proteina *spike* viene riconosciuta dal sistema immunitario che inizia a produrre anticorpi neutralizzanti e impedisce al virus di infettare le nostre cellule.

**I vaccini anti Covid-19 per i malati di fibrosi cistica**

In merito all'opportunità di utilizzo dei vaccini anti Covid-19 per i soggetti affetti da **fibrosi cistica**, va ricordato che al momento sono disponibili due tipi di vaccini.

- **i vaccini a RNA messaggero**, che veicolano all'interno delle cellule del soggetto da vaccinare l'RNA messaggero della proteina *spike* protetto da una gocciolina di grasso. I due vaccini a RNA messaggero contro il Covid-19 autorizzati dall'Agenzia Europea per i Medicinali e dall'AIFA sono il vaccino Pfizer BioNTech (approvato il 21 dicembre 2020) e il vaccino Moderna (6 gennaio 2021).

- **i vaccini a vettore virale**, che sfruttano alcuni virus del raffreddore (degli scimpanzé o umani) per far entrare nella cellula il gene della proteina *spike* di SARS-CoV-2. Per questa tipologia di vaccino, finora le agenzie regolatorie hanno autorizzato l'uso del vaccino Vaxzevria (noto come vaccino AstraZeneca, autorizzato il 30 gennaio 2021) e il vaccino monodose Janssen di Johnson&Johnson (12 marzo 2021).

Ambedue le tipologie di vaccini sono efficaci e riescono a proteggere i soggetti dal **contagio** o, almeno, dagli **effetti clinici più gravi** dell'infezione.

Gli **effetti avversi** causati dalle vaccinazioni sono, nella gran parte dei casi di lieve entità. Quelli più gravi sono risultati, dopo decine di milioni di dosi utilizzate nel mondo, molto ridotti di numero, nell'ordine di un effetto avverso grave ogni centinaia di migliaia di dosi o di un milione di dosi iniettate.

Il rischio di sviluppare effetti avversi è nettamente inferiore a quello legato alla possibilità di essere contagiati dal Covid-19.

**Riferimenti bibliografici**

1. Bernardino Fantini, "La medicina scientifica e le trasformazioni nelle teorie e nelle pratiche della medicina occidentale" in "In principio era la cura", Laterza, 1995.



# IL GENOME EDITING E LA TERAPIA GENICA PER LA FIBROSI CISTICA

## DNA e RNA messaggero come bersagli delle più avanzate tecniche genetiche

**Anna Cereseto**

*Responsabile laboratorio Virologia molecolare, CIBIO - Università di Trento*

Dalla scoperta della doppia elica del DNA, avvenuta circa a metà del secolo scorso, grandi **avanzamenti tecnologici** hanno permesso di analizzare in maniera precisa questa molecola facilitando l'individuazione delle alterazioni alla base di malattie genetiche.

Le conoscenze sul genoma umano e sulla base genetica di malattie ereditarie hanno aperto l'orizzonte di un nuovo tipo di cura, chiamata **terapia genica**, che si basa sul trasferimento di acidi nucleici (DNA o RNA).

L'obiettivo di questo approccio terapeutico è intervenire sul difetto genetico per correggerlo, **eliminando la causa** della malattia e ripristinando in modo definitivo il funzionamento cellulare e dell'organismo.

Le malattie monogeniche, cioè causate dall'alterazione di **un solo gene**, sono circa 5000 e colpiscono almeno 250 milioni di individui in tutto il mondo. Le malattie monogeniche, come la fibrosi cistica, sono quelle che risultano più facili da affrontare con la terapia genica e quelle da cui si sono ottenuti il maggior numero di risultati.

**Molte malattie genetiche dovute alla mutazione di un singolo gene potrebbero essere trattate con la terapia genica**

### La terapia genica per la fibrosi cistica

In seguito all'individuazione e all'isolamento del gene CFTR all'inizio degli anni '90, nei laboratori di ricerca sono state messe a punto diverse strategie terapeutiche su base genetica per correggere le mutazioni che causano la fibrosi cistica. Numerose sperimentazioni hanno permesso l'avanzamento della terapia genica in questo campo e hanno contribuito a mettere in luce le problematiche legate a questo approccio. Già i primi studi hanno evidenziato i limiti legati all'inserimento nella cellula di una copia dell'**intero gene CFTR** normale, così come la necessi-

tà di controllare che una volta introdotto non si collochi in **posizioni scorrette** del DNA.

La sperimentazione clinica con pazienti di fibrosi cistica è iniziata poco dopo la definizione monogenica della malattia: già nel 1993 è stato sperimentato il trasferimento di una copia funzionante di CFTR nell'epitelio nasale e bronchiale (1, 2). Da allora hanno preso il via decine di altre sperimentazioni di terapia genica, che sono approdate a fasi molto iniziali di sperimentazione clinica (1).

Sebbene le nostre conoscenze su questo tipo di intervento siano decisamente aumentate, purtroppo i **risultati terapeutici** non sono stati soddisfacenti.

La terapia genica in generale, e non solo per la fibrosi cistica, ha infatti subito una battuta d'arresto di fronte a una serie di problematiche tecniche che ne hanno ridimensionato notevolmente le aspettative iniziali.

Tra i più importanti obiettivi da raggiungere in terapia genica in generale, e nello specifico per il *genome editing*, c'è il trovare il metodo più **sicuro ed efficace** per portare all'interno delle cellule, a livello del DNA, la copia del gene normale o la tecnologia CRISPR.

Storicamente, i metodi di maggiore successo sono quelli derivanti dai **virus** che, per loro natura, hanno adottato meccanismi molto efficaci di entrata all'interno della cellula. È difficile sorpassare o anche solo riprodurre in laboratorio, con tecniche bio-chimiche, le proprietà di penetrazione cellulare acquisite evolutivamente dai virus. Per fortuna i ricercatori sono in grado di sostituire gli elementi virali che causano malattie con sequenze terapeutiche e così sfruttare i virus come efficaci e sicure "navette curative", chiamate tecnicamente **vettori virali**.

Vettori derivanti da diversi tipi di virus sono at-

**La terapia genica per la FC con l'introduzione del gene normale CFTR nelle cellule ha dato finora risultati modesti**

tualmente in uso a livello clinico per la cura di numerose malattie genetiche; nel campo della fibrosi cistica, il vettore derivante dal **virus Adeno Associato (AAV)** sembra essere il più promettente in termini di efficacia e sicurezza.

## La tecnologia CRISPR-Cas per riscrivere il DNA

L'avanzamento tecnologico nel campo del *genome editing* è arrivato in tempi successivi alla nascita della terapia genica ed è culminato con la scoperta della tecnologia CRISPR-Cas.

**Il genome editing dà la possibilità di correggere in maniera precisa una mutazione genetica all'interno del DNA**

Il rinnovato entusiasmo acceso dal nuovo approccio ha aperto ulteriori prospettive di **strategia curativa mediante DNA o RNA**.

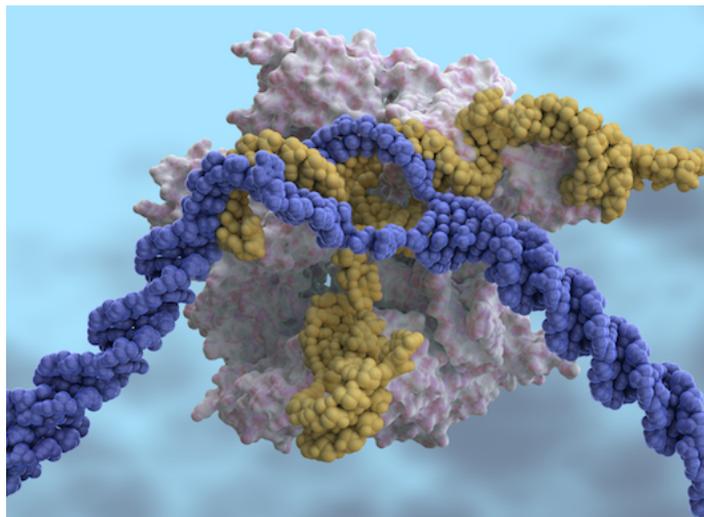
Infatti, se la terapia genica "convenzionale" prevede di compensare il difetto genetico inserendo dall'esterno una copia corretta del gene, con il *genome editing* si può intervenire **direttamente sul DNA** della cellula per riparare il gene nella sua posizione naturale (Figura 1).



**Figura 1.** La tecnologia CRISPR-Cas9 permette riscrivere il DNA.

L'elemento base del *genome editing* è una "forbice" molecolare che taglia e riscrive parte del DNA. L'origine delle **forbici molecolari** per la riscrittura del DNA deriva da osservazioni scientifiche in altri ambiti delle scienze della vita, grazie alle quali si è scoperto che, a seguito di eventi chimici o fisici che generano tagli del DNA, la doppia elica viene modificata (riscritta), seppur in modo casuale e non programmabile.

Sono stati proprio i risultati degli studi sui meccanismi di taglio e modifica a stimolare la ricerca di nuove forbici molecolari che siano **programmabili** e che possano essere usate per



**Figura 2.** Complesso CRISPR-Cas9: In grigio il modulo proteico, Cas9, con attività enzimatica in grado di tagliare la doppia elica del DNA. In giallo il modulo programmabile di RNA guida con funzione di portare l'enzima Cas9 sul punto di DNA che deve essere tagliato. In viola la doppia elica di DNA che viene tagliata dal complesso CRISPR-Cas9.

indirizzare i tagli nel DNA in punti voluti, come le mutazioni patogene, in modo da correggerli con la terapia genica.

Lo sviluppo del *genome editing* è iniziato lentamente per la scarsa disponibilità di strumenti molecolari facilmente programmabili. Negli anni si sono studiate sia forbici naturali derivanti dal **lievito**, chiamate meganucleasi, sia forbici molecolari costruite artificialmente tramite **ingegneria genetica**. Ma è solo nel 2012 che viene resa nota l'esistenza di CRISPR-Cas9 (Figura 2), la molecola che determinerà una rivoluzione nel mondo della scienza della vita.

**CRISPR-Cas9 è una forbice molecolare scoperta nei batteri che la usano per difendersi dai virus**

**CRISPR-Cas9** è una forbice molecolare incredibilmente facile da programmare, alla portata di tutti gli addetti ai lavori, che permette di modificare il DNA cellulare come mai era stato possibile prima.

Le prime indagini su CRISPR-Cas9 risalgono alla fine degli anni '80 da studi di **microbiologia** che si focalizzano su elementi genetici peculiari individuati nei batteri e altri organismi unicellulari. Sono studi che si svolgevano in ambiti molto lontani dalla terapia genica e senza alcuna finalità applicativa nella bio-medicina.

La transizione che ha portato la molecola CRISPR-Cas9 dai batteri, dove funziona come meccanismo di difesa contro gli attacchi virali, a una tecnologia per il *genome editing* è avvenuta

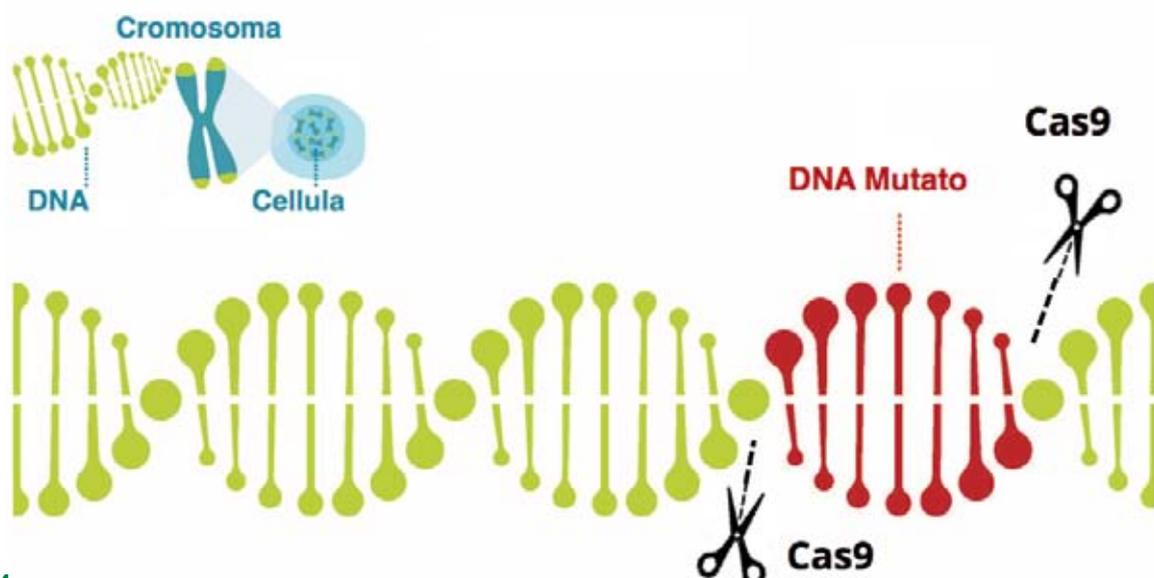


**Figura 3.** Jennifer Doudna (a sinistra) ed Emmanuelle Charpentier (a destra): alle due scienziate nel 2020 è stato assegnato il premio Nobel per la ricerca "per lo sviluppo di un metodo per l'editing del genoma.

ta nel 2012 con due ricercatrici: **Jennifer Doudna** di Berkeley (USA) ed **Emmanuelle Charpentier** della Umeå University (Svezia) (Figura 3).

Nel loro lavoro le due ricercatrici dimostrano che, con minime modifiche di adattamento, la molecola CRISPR-Cas9 taglia il DNA non solo batterico ma anche umano, diventando di fatto una forbice molecolare per la riscrittura del DNA. Una **scoperta rivoluzionaria** che ha valso il riconoscimento del premio Nobel per la Chimica nel 2020 alle due ricercatrici.

Alla prima pubblicazione sull'uso di CRISPR per modificare il genoma cellulare, sono seguiti numerosissimi lavori in cui CRISPR viene usata per la correzione di sequenze mutate nelle cellule (Figura 4). E da lì a poco sono iniziate le sperimentazioni cliniche che a oggi ammontano a una quarantina in tutto il mondo, un record in termini di tempo per il passaggio di una tecnologia di laboratorio alla **clinica sperimentale** (3).



**Figura 4.** La tecnologia CRISPR-Cas9 permette di apportare modifiche al DNA tramite il taglio della doppia elica a opera dell'enzima Cas9.

Il laboratorio di Virologia Molecolare che dirigo nel Dipartimento di Biologia Integrata Cellulare e Computazionale (CIBIO) dell'Università di Trento si è interessato a CRISPR fin dalla sua nascita. Ci siamo avvicinati a questa tecnologia per le potenzialità del suo utilizzo nel riparo delle alterazioni genetiche.

Il nostro primo obiettivo è stato di migliorare CRISPR-Cas9: alla sua nascita, infatti, aveva difetti che la rendevano incompatibile con un suo utilizzo in clinica. In particolare ci preoccupavano i **tagli "fuori bersaglio"** con effetti collaterali (alterazioni geniche) non prevedibili. Il nostro lavoro ha generato una delle varianti di CRISPR, **evo-Cas9**, che rimane la più precisa nel campo del *genome editing* basato su CRISPR.

**Nel tempo, la forbice molecolare è stata perfezionata per tagliare il DNA in maniera più precisa**

### L'applicazione delle nuove tecnologie alla fibrosi cistica

Oltre allo sviluppo tecnologico, e grazie al sostegno della Fondazione Ricerca Fibrosi Cistica (FFC), abbiamo condotto esperimenti per la messa a punto di nuove strategie per il riparo di mutazioni che causano la fibrosi cistica.

Il primo risultato lo abbiamo ottenuto concentrandoci su **mutazioni di splicing 3272-26A>G e 3849+10kbC>T** localizzate in un introne del gene CFTR. Gli introni sono regioni di DNA meno delicate da maneggiare e con minor rischio di effetti collaterali.

**Per alcune particolari mutazioni CFTR, CRISPR-Cas9 è stata applicata con successo su organoidi intestinali FC**

Abbiamo messo a punto un sistema di "taglio" dei difetti intronici e abbiamo dimostrato, su organoidi intestinali FC, che questo approccio permette di ripristinare il normale funzionamento di CFTR annullando le alterazioni funzionali conseguenti alle mutazioni 3272-26A>G e 3849+10kbC>T 4.

Nella figura 5 viene riportato un esempio di risultato sperimentale di correzione dell'RNA prodotto dal gene CFTR a seguito dell'uso di CRISPR-Cas sulla mutazione 3272-26A>G.

Al nostro lavoro si sono aggiunti studi di altri gruppi di ricerca che hanno dimostrato l'efficacia di CRISPR nel riparare le mutazioni di CFTR. I risultati ottenuti con successo in laboratorio sono ora la base di studi per il trasferimento alla sperimentazione clinica (2).

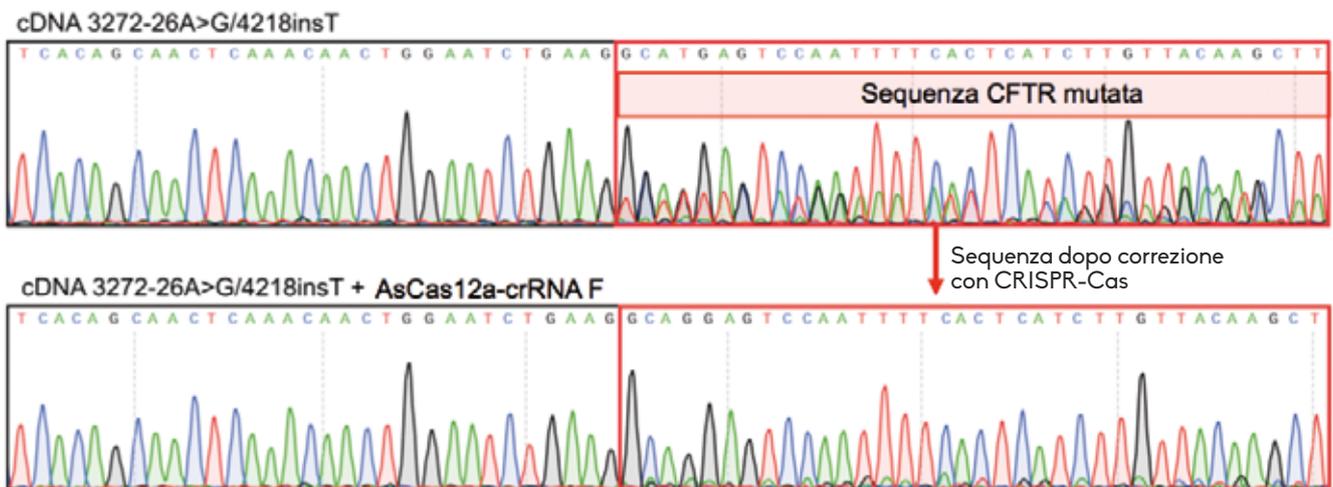
Più complesso è affrontare la mutazione più frequente, la F508del, perché si trova proprio in mezzo a un esone, cioè la parte che codifica per la proteina, e perché il tipo di mutazione da riparare è più complesso, in quanto costituito da 3 nucleotidi mancanti. A oggi i tentativi di *genome editing* su questa mutazione si basano sulla **ricombinazione omologa**, una tecnologia che prevede di fornire alla

cellula una copia del DNA corretto per indurla a sostituire la sequenza mutata con quella corretta grazie ai tagli introdotti da CRISPR. Purtroppo i risultati pubblicati finora dimostrano una **scarsa efficienza** di questa via di riparo, rendendola difficilmente traducibile in un'applicazione clinica. Il mio laboratorio con il supporto della FFC sta studiando approcci CRISPR alternativi a quelli tentati fino a oggi con l'intenzione di aumentare l'efficacia di riparo di questa mutazione.

C'è all'orizzonte un'altra modalità di terapia genica che si propone di intervenire su **un altro acido nucleico** prodotto dalla cellula: l'RNA messaggero. L'RNA messaggero serve alla cellula per veicolare l'informazione derivante dal DNA alla cellula. È quindi possibile aggirare gli errori derivanti da un DNA alterato fornendo direttamente l'RNA corretto o correggendo l'RNA sempre con tecnologie derivate da CRISPR.

Un'altra via: intervenire, invece che sul DNA, sull'informazione genetica portata dall'RNA messaggero

La mutazione F508del è più difficile da correggere con CRISPR perché non basta tagliare, è necessario introdurre il frammento di DNA corretto



**Figura 5.** Esempio di correzione con CRISPR-Cas di un trascritto dopo *editing* di CFTR con mutazione di splicing 3272-26A>G. Pannello alto: cromatogramma di sequenza alterata (disordine di picchi colorati che corrispondono ai nucleotidi) a causa di una mutazione. Pannello basso: cromatogramma di sequenza corretta (ordine di picchi colorati che corrispondono ai nucleotidi) a seguito di utilizzo di tecnologia CRISPR-Cas in cellule umane.

di inserire direttamente nella cellula FC l'RNA messaggero di CFTR normale per compensare difetti genetici.

Un progetto sostenuto da CFF, la Fondazione per la Fibrosi Cistica americana, sta sperimentando la possibilità di un **aerosol** contenente RNA messaggero di CFTR normale (5).

Dalla terapia genica basata sul trasferimento genico di CFTR corretto al *genome editing* per la correzione del gene *in situ*, le **terapie avanzate** per la cura della fibrosi cistica procedono a ritmo sostenuto.

**Tra terapia genica e genome editing, lo studio di terapie avanzate per la FC procede a ritmo sostenuto**

I recenti sviluppi tecnologici hanno portato risultati promettenti e permesso di mettere a fuoco i limiti del *genome editing* che attualmente impediscono un ampio utilizzo in clinica.

I rapidi progressi del *genome editing* e, con essi, la rinvigorita fiducia nella terapia genica sono alla base di sforzi di numerosi laboratori nel mondo nella speranza di raggiungere soluzioni terapeutiche **efficaci e definitive** per la fibrosi cistica.

### Riferimenti bibliografici

1. Cooney AL, McCray PB, Sinn PL. Cystic Fibrosis Gene Therapy: Looking Back, Looking Forward. *Genes*. 2018;9(11). doi:10.3390/genes9110538
2. Maule G, Arosio D, Cereseto A. Gene Therapy for Cystic Fibrosis: Progress and Challenges of Genome Editing. *Int J Mol Sci*. 2020;21(11). doi:10.3390/ijms21113903
3. Doudna JA. The promise and challenge of therapeutic genome editing. *Nature*. 2020;578(7794):229-236. doi:10.1038/s41586-020-1978-5
4. Maule G, Casini A, Montagna C, et al. Allele specific repair of splicing mutations in cystic fibrosis through AsCas12a genome editing. *Nat Commun*. 2019;10(1):3556. doi:10.1038/s41467-019-11454-9
5. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03375047>



### Graziella Borgo

Pediatra. Genetista. Già dirigente medico e responsabile del Servizio di Consulenza genetica presso il Centro Fibrosi Cistica di Verona fino al 2004. Dal 2006 al 2020 è stata vicedirettore scientifico di Fondazione Ricerca Fibrosi Cistica.



### Giorgio Berton

Laureato in Medicina e Chirurgia a Trieste, si è poi dedicato esclusivamente alla ricerca sperimentale, prima all'Università di Trieste e poi all'Università di Oxford. Dal 1982 ha lavorato nell'Istituto di Patologia Generale dell'Università di Verona dove dal 1994 ha ricoperto il ruolo di Professore Ordinario. I suoi interessi di ricerca principali hanno riguardato le cellule delle difese innate e il loro ruolo nello sviluppo dell'infiammazione. Ha fatto parte del Comitato di Consulenza Scientifica FFC, di cui negli ultimi anni è stato il presidente, e attualmente ricopre il ruolo di Direttore scientifico di FFC.



### Marco Salvatore

Genetista, ricercatore presso il Centro Nazionale Malattie Rare (Istituto Superiore di Sanità). Studia da oltre 20 anni malattie rare e dal 2018 dirige una Struttura interdipartimentale dedicata a quelle senza diagnosi. È membro del Network internazionale *Undiagnosed Rare Diseases International* a esse dedicato. Dal 2016 è membro del Comitato Scientifico del registro italiano FC; dal 2020 ne è co-Responsabile scientifico e riveste il ruolo di *Alternate Representative Member* dello *steering group* del registro europeo FC. Dal 2014 coordina il controllo esterno di qualità del test del sudore per la fibrosi cistica svolto a livello nazionale.



### Cesare Braggion

Pediatra, già responsabile dell'Unità di Broncologia presso il Centro FC di Verona e responsabile del Centro FC di Firenze (2006-2018). Presidente della Società Italiana Fibrosi Cistica nel 2004-2007 e dal 2008 direttore editoriale di *Orizzonti FC*. Attuale membro della Direzione Scientifica di FFC (Area Clinica).



### Massimo Valsecchi

Laureato in Medicina e Chirurgia nel 1973 ha ottenuto la specialità in Medicina del lavoro e in Igiene e sanità pubblica. Ha diretto per 15 anni il Dipartimento di Prevenzione dell'Asl di Verona di cui è stato, per cinque anni, direttore sanitario. È presidente del comitato scientifico della Società di Igiene Pubblica e Digitale (SISPeD) e componente del NITAG (Gruppo Tecnico Consultivo Nazionale sulle Vaccinazioni - *National Immunisation Technical Advisory Group*). È segretario dell'Accademia di Agricoltura, Scienze e Lettere di Verona.



### Anna Cereseto

Professoressa Ordinario di Biologia Molecolare all'Università di Trento. Ha iniziato la sua carriera scientifica negli Stati Uniti al National Institute of Health e successivamente alla Cornell University e al Mount Sinai School of Medicine. Rientra in Italia all'Istituto Superiore di Sanità per poi spostarsi all'ICGEB di Trieste e infine alla Scuola Normale Superiore di Pisa. I suoi studi vertono sullo sviluppo biotecnologico di strumenti per l'*editing* genomico da applicare in terapia genica per la cura di malattie genetiche, in particolare la fibrosi cistica.



### Federico Taddia

Voce dei programmi I Padrieterini e Terra in vista su Radio24, ha condotto Screensaver su Rai 3, Nautilus su RaiCultura, BigBang su DeaKids. Scrive su La Stampa e Topolino. Con "Teste Toste" ha vinto il premio Andersen per la divulgazione scientifica, tra i suoi libri "Perché le stelle non ci cadono in testa?" con Margherita Hack, "Perché siamo parenti delle galline?" con Telmo Pievani e "Perché la terra ha la febbre?" con Elisa Palazzi. Il suo ultimo saggio è "Vi teniamo d'occhio - Il futuro sostenibile spiegato bene".



### Jacopo Sacquegno

Biologo molecolare di formazione, da sempre appassionato di scienze della vita e della natura. La sua seconda passione è quella per il disegno, la sintesi visiva, gli schemi concettuali. Oggi unisce le due cose: è infatti un Visual Thinker, e tramite sketch e mappe visuali illustrate, divulga e comunica i concetti e i metodi della scienza, collaborando anche con ricercatori, università e associazioni per fornire supporto visuale alla loro attività di comunicazione scientifica.



### Michele Gangemi

Partito dal Centro Fibrosi Cistica di Verona è poi approdato come pediatra di famiglia, sempre a Verona. È stato presidente nazionale dell'Associazione culturale pediatri per due mandati consecutivi e attualmente dirige la rivista Quaderni acp. Si è formato al counseling sistemico presso la scuola Change di Torino. È vicepresidente del Comitato Etico dell'Azienda Ospedaliera Integrata di Verona e fa parte del CDA della Fondazione Ricerca Fibrosi Cistica.







**Presidenza Matteo Marzotto**  
Segreteria di presidenza: Gabriella Cadoni  
Tel. 045 8123597  
presidenza@fibrosicisticaricerca.it

**Consiglio di Amministrazione**  
Presidente: Matteo Marzotto  
Presidente emerito: Vittoriano Faganelli  
Vicepresidenti: Paolo Faganelli, Michele Romano  
Consiglieri: Michele Bauli, Giorgio Berton  
Riccardo Boatto, Cesare Braggion, Callisto Marco Bravi,  
Sandro Caffi, Francesco Cobello, Michele Gangemi,  
Giuseppe Lauria Pinter, Giuseppe Magazzù,  
Laura Minicucci, Patrizia Volpato

**Direzione Scientifica**  
Direttore: Giorgio Berton  
Segreteria scientifica: Federica Lavarini  
Tel. 045 8127037  
federica.lavarini@fibrosicisticaricerca.it

**Gestione e promozione attività di ricerca clinica**  
Cesare Braggion  
cesarebraggion.133@gmail.com

**Research program manager - Grant officer**  
Ermanno Rizzi  
ermanno.rizzi@fibrosicisticaricerca.it

**Divulgazione, informazione scientifica e formazione**  
Responsabile: Graziella Borgo  
Luisa Alessio  
Tel. 045 8127027  
graziella.borgo@fibrosicisticaricerca.it  
luisa.alessio@fibrosicisticaricerca.it

**Comitato di consulenza scientifica**  
Presidente: Carlo Castellani  
Consulenti: Paolo Bernardi, Cesare Braggion, Paola Bruni,  
Roberto Buzzetti, Oscar Moran, Gian Maria Rossolini

**Direzione di gestione**  
Giuseppe Zanferrari  
Tel. 045 8127028  
giuseppe.zanferrari@fibrosicisticaricerca.it

**Amministrazione**  
Responsabile: G. Cadoni  
M. Bergamaschi, M. Giacomuzzi  
Tel. 045 8123597 - 7034 - 7025  
gabriella.cadoni@fibrosicisticaricerca.it  
michela.bergamaschi@fibrosicisticaricerca.it  
marina.giacomuzzi@fibrosicisticaricerca.it

**Comunicazione**  
Responsabile: V. Merighi  
S. Chignola, I. Boarato, G. Bovi  
Tel. 045 8123599 - 7026  
valeria.merighi@fibrosicisticaricerca.it  
stefania.chignola@fibrosicisticaricerca.it  
isabella.boarato@fibrosicisticaricerca.it  
giulia.bovi@fibrosicisticaricerca.it  
*Progetti editoriali:* M. Zanolli  
marina.zanolli@fibrosicisticaricerca.it  
*Ufficio stampa:* P. Adami  
Tel. 348 3820355  
patrizia@clabcomunicazione.it

**Raccolta fondi e rapporti con il territorio**  
Responsabile: F. Cabianca  
L. Fratta, G. Buemi, F. Morbioli, PF. Micara  
Tel. 045 8123605 - 7032 - 7033 - 7029  
fabio.cabianca@fibrosicisticaricerca.it  
laura.fratta@fibrosicisticaricerca.it  
giusy.buemi@fibrosicisticaricerca.it  
francesca.morbioli@fibrosicisticaricerca.it  
pierfrancesco.micara@fibrosicisticaricerca.it

**Fondazione Ricerca Fibrosi Cistica**  
Ospedale Maggiore, Piazzale Stefani, 1 - 37126 Verona  
Tel. 045 8123438  
fondazione.ricercafc@aovr.veneto.it

## Delegazioni della Fondazione

Alessandria - Acqui Terme	366 1952515
Alessandria - Valle Scrivia	347 3095778
Ancona - Fabriano	347 8638704
Ascoli Piceno	320 4792114
Asti - Moncalvo	339 5819218
Avellino	349 3940749
Bari - Alberobello	329 2113764
Belluno	0437 943360
Bergamo - Trescore Balneario	338 4276716
Bergamo - Villa D'almè	335 8369504
Biella	331 9028525
Bologna	348 1565099
Brescia - Franciacorta Valle Canonica	340 6589530
Brindisi - Torre	327 2056244
Cagliari - Villasimius	348 7162291
Catania Mascalucia	333 1909983
Catania - Paternò	348 7237760
Catanzaro - Soverato	347 5283975
Cecina e Rosignano	340 6113886
Como - Dongo	334 3081368
Cosenza Nord	349 0519433
Cosenza Sud	347 9041138
Cuneo - Alba	333 6301943
Fermo	339 4758897
Ferrara	347 4468030
Firenze	333 6485308
Firenze - Reggello	328 7043136
Foggia	320 4848190
Genova	348 1634818
Grosseto - Manciano	333 8221877
Imola e Romagna	347 9616369
Latina	328 8042186
Lecce	388 3498587
Lecco Valsassina	338 9993582
Livorno	0586 808093
Lodi	347 0969534
Lucca	340 3436289
Matera Montescaglioso	334 3477508
Messina	349 7109375
Milano	335 456809
Napoli e Pompei	081 679151
Napoli	338 7032132
Novara	331 7287449
Olbia	334 6655844
Oriстано - Riola Sardo	342 5133252
Padova - Monselice	042 974085
Palermo e Trapani	338 4124077
Parma	0521 386303
Pavia	338 3950152
Pavia - Vigevano	339 2001843
Perugia	371 1464395
Perugia - Umbertide Città di Castello	320 9273469
Pesaro	347 0191092
Pescara	347 0502460
Prato	328 9076797
Ragusa - Vittoria Siracusa	338 6325645
Reggio Calabria	342 5618929
Reggio Emilia	0522 874720
Roma	331 8655610
Roma - Monterotondo	349 6500536
Roma - Pomezia	349 1538838
Roma - Vaticano	328 2442701
Rovigo	349 1252300
Sassari - Castelsardo	338 8437919
Siena	348 5435913
Sondrio - Morbegno	349 6852688
Sondrio - Valchiavenna	333 7063142
Taranto "A Carmen La Gioia"	320 8715264
Taranto - Massafra	329 2025039
Torino	328 8352087
Torino - Rivarolo Canavese	347 9672344
Treviso - Montebelluna	335 8413296
Treviso - Trevignano	340 6749202
Trieste	349 7246586

Varese	347 8347126
Varese - Tradate Gallarate	347 2441141
Verbania e V.C.O.	338 2328074
Vercelli	335 1264091
Verona	347 8480516
Verona - Bovolone	348 3395278
Verona - Cerea "Il Sorriso di Jenny"	339 4312185
Verona - Lago di Garda	348 7632784
Verona - Boschi Sant'Anna Minerbe	328 7140333
Verona - Val d'Alpone	328 9688473
Verona - Valdadige	340 6750646
Verona - Valpolicella	339 3316451
Vibo Valentia San Costantino Calabro	388 7767773
Vicenza	333 8877053
Viterbo	339 2107950

## Gruppi di sostegno della Fondazione

Agrigento	329 0165039
Alessandria - Casale Monferrato	392 6657566
Ancona Falconara	347 3329883
Arezzo	380 7784658
Bari - Altamura	334 7295932
Bari - Bitritto	340 1618950
Barletta	0883 519569
Benevento	347 4722532
Bergamo - Isola Bergamasca	349 5002741
Bergamo - Val Seriana	393 1462537
Bologna - Crevalcore	380 6570161
Bolzano	327 9151521
Bolzano - Val Badia	333 6911430
Brindisi - Latiano	347 6350915
Cagliari - Isili	388 8925391
Campobasso	346 8744118
Codogno e Piacenza	348 1113384
Cosenza - Cassano allo Jonio	346 3553586
Cremona	389 1191703
Cremona - Genivolta	347 9345030
Crotone	340 7784226
Crotone "Vita in te ci credo"	328 6146195
Ferrara - Comacchio	339 6511817
Foggia - Manfredonia	347 5012570
Foggia - San Giovanni Rotondo	340 8789661
Genova "Mamme per la ricerca"	333 4761744
Gorizia - Grado	328 6523404
Imperia	339 5073139
L'Aquila - Della Valle Peligna e della Marsica	351 91974606
La Spezia - Sarzana "Natalina"	349 7665757
Macerata - Civitanova Marche	349 3746720
Medio Campidano	349 7829841
Messina - Capo D'Orlando	331 9564678
Messina - Tremestieri	342 7197671
Milano - Casarile	339 2055787
Milano - Lainate	348 3807009
Milano - Magenta	339 4887552
Modena - Sassuolo	333 5862932
Monza Brianza - Seregno	338 4848262
Monza Brianza - Vimercate	349 6706611
Napoli - Saviano	339 3185405
Nuoro - Siniscola	320 7953209
Padova - Urbana	347 0814872
Parma - Fidenza	334 6994359
Pistoia - Montecatini Terme	327 7054157
Ravenna - Faenza	0546 44310
Rovigo - Adria	377 2077527
Salerno - Golfo di Policastro	328 8660690
Sassari - Alghero	347 8650806
Savona - Spotorno	334 3368141
Siracusa - Melilli	333 2005089
Sondrio - Tresivio Ponte	366 7338007
Taormina	347 4222790
Teramo - Martinsicuro	388 9400461
Torino - Campiglione - Fenile	349 6250546
Torino - Chivasso	011 9172055
Torino - Ivrea	335 7716637
Torino - Nichelino	333 2923955
Trento - Ass.ne Trentina Fibrosi Cistica	340 5228888
Venezia - Mirano	340 1668645
Verona "Rita"	347 6064471

**fibrosicisticaricerca.it**



**Fondazione Ricerca Fibrosi Cistica**



**fondazioneffc**



**Fondazione Ricerca Fibrosi Cistica (FFC)**



Fondazione Ricerca  
Fibrosi Cistica - Onlus  
fibrosicisticaricerca.it

**NOI,  
SENZA RESPIRO  
DA SEMPRE.**

**FA' CHE NON SIA  
PER SEMPRE.**

**Il tuo 5x1000 a FFC**

**|9|3|1|0|0|6|0|0|2|3|3|**

Emma Cascone, 12 anni, malata di fibrosi cistica. Foto Alberto Giuliani

## Per donare

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

Le donazioni effettuate a favore di Onlus comportano il diritto di usufruire di alcune agevolazioni fiscali, così come previsto dal nostro sistema tributario.

Per approfondire: [fibrosicisticaricerca.it/benefici-fiscali-per-le-donazioni](http://fibrosicisticaricerca.it/benefici-fiscali-per-le-donazioni)



DONARE CON FIDUCIA

FFC aderisce all'Istituto Italiano della Donazione che ne attesta l'uso trasparente ed efficace dei fondi raccolti, a tutela dei diritti del donatore.