

**Anno Accademico 2007-2008**

**Lezioni di Pediatria Generale e Specialistica**

*Prof AF Capristo; Prof F Decimo; Prof M Miraglia del Giudice;  
Dott C Capristo; Dott.ssa N Maiello; Dott. R Amelio*

**Asma Bronchiale**

**Polmoniti**

**Fibrosi Cistica**

**Bronchiolite**

# Fibrosi Cistica

- **Più comune malattia Autosomica Recessiva nelle popolazioni di origine caucasica**
- **Nati/anno: oltre 200**
- **Affetti: circa 5000-6000 (60% bambini)**
- **Portatori: oltre 2.200.000**
- **Sopravvivenza media: 30 anni**

# Modelli di analisi genetica per la fibrosi cistica

*Società Italiana di Genetica Medica 2005*

- La fibrosi cistica è la malattia autosomica recessiva grave più comune nella popolazione italiana
- E' verosimile che i dati raccolti nel registro italiano della fibrosi cistica sottostimino il numero degli affetti poiché il potenziale diagnostico della malattia è soggetto a un'ampia variabilità regionale
- Sembra perciò più affidabile fare riferimento a programmi di *screening* neonatale che riportano un'incidenza compresa tra 1/2.730 e 1/3.170 nati
- Da questi dati si può desumere una frequenza di portatori compresa tra 1/26 e 1/30

# Modelli di analisi genetica per la fibrosi cistica

*Società Italiana di Genetica Medica 2005*

- Il gene responsabile della malattia si trova sul braccio lungo del cromosoma 7, si estende per oltre 250.000 basi e contiene 27 esoni
- La proteina codificata è chiamata Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR), è composta da 1.480 aminoacidi, e la sua funzione principale riguarda il trasporto transmembrana del cloro
- Le mutazioni del gene CFTR sono molto numerose: a oggi ne sono state individuate più di 1.300
- Non tutte le variazioni di sequenza codificante comportano un quadro clinico compatibile con la malattia: c'è un numero non trascurabile di varianti nucleotidiche che sono associate a forme atipiche, o per le quali non esistono dati sufficienti a definirne il ruolo patogenetico

# Cystic fibrosis in neonates and infants

*Minasian C et al - Early Human Development 2005; 81: 997-1004*

## Funzioni di CFTR

- Trasporto di  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$
- Regolazione di altri canali ionici (ENaC)
- Controllo del Ph extracellulare
- Acidificazione intravescicolare
- Endocitosi
- Regolazione Acquaporina 3
- Apoptosi epiteliale
- Internalizzazione di *Pseudomonas Aeruginosa*
- Gap junction
- Regolazione  $\text{Ca}^{++}$
- Densità fluidi extracellulari
- Trasporto del glutatione
- Aumento sulfuronazione del muco
- Attività NFkB
- Produzione di chemochine

# Basic science of cystic fibrosis

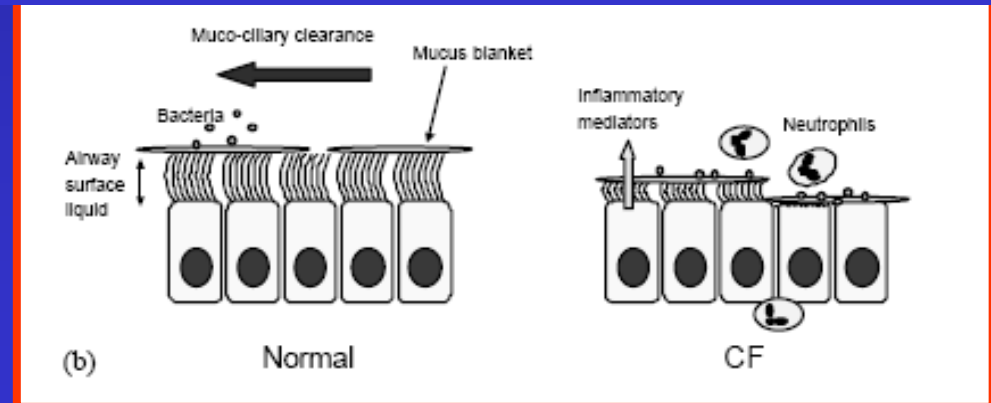
Hull J - *Current Paediatrics* 2003; 13: 253-258

- Il sudore viene secreto come soluzione non isotonica. Dopo passaggio attraverso il dotto,  $\text{Cl}^-$  viene riassorbito attraverso il CFTR.  $\text{Na}^+$  viene ugualmente riassorbito per mantenere l'equilibrio elettrochimico. Il dotto risulta impermeabile all'acqua determinando l'ipotonicità del sudore

- Quando CFTR è inattivo,  $\text{Cl}^-$  non può essere riassorbito con contestuale riduzione del trasporto di  $\text{Na}^+$ : il sudore diviene ipertonico (valori di  $\text{Cl}^- > 60 \text{ mmol/l}$  consentono di porre diagnosi di CF)

Nelle vie aeree dei pazienti con CF la disfunzione di CFTR determina un eccesso di riassorbimento del liquido di superficie placche di muco disidratato diventano aderenti alle cellule epiteliali con deficit della clearance dei batteri inalati

I batteri penetrano nelle placche laddove vengono protetti dai sistemi di difesa dell'ospite



# Cystic fibrosis: disease mechanisms and therapeutic targets

McKone EF et al - Drug Discovery Today: Disease Mechanisms; 1:2004



# Effect of genotype on phenotype and mortality in cystic fibrosis: a retrospective cohort study

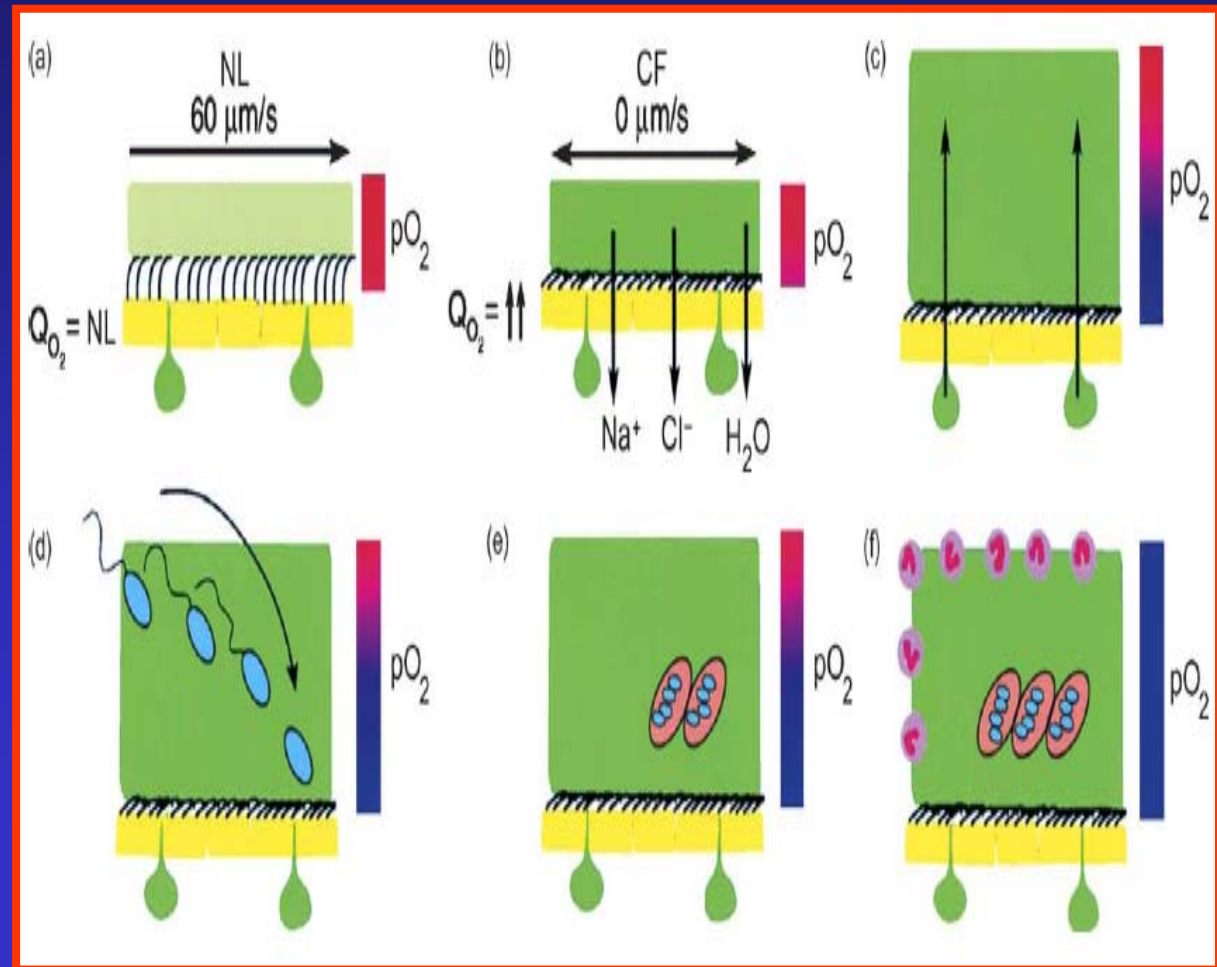
McKone EF et al. - *Lancet* 2003; 361: 1671–76

<b>CFTR mutation</b>	<b>Allele frequency (%)</b>	<b>CFTR mutation</b>	<b>Allele frequency</b>
$\Delta$ F508	69.4%	2789+5G→A	0.3%
Unknown	15.7%	R1162X	0.3%
G542X	2.3%	G85E	0.3%
G551D	2.2%	R560T	0.2%
$\Delta$ I507	1.6%	R334W	0.2%
W1282X	1.4%	3659 $\Delta$ C	0.2%
N1303K	1.2%	A455E	0.1%
R553X	0.9%	711+1G→T	0.1%
621+1G→T	0.8%	1898+1G→A	0.1%
R117H	0.7%	2184 $\Delta$ A	0.1%
3849+10 kbC→T	0.7%	S549N	0.1%
1717-1G→A	0.5%	1078 $\Delta$ T	0.03%
R347P	0.3%		

# Cystic fibrosis: disease mechanisms and therapeutic targets

McKone EF et al. - *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms*; 1, 2004

- Blocco della secrezione di  $\text{Cl}^-$ , eccessivo assorbimento di acqua e  $\text{Na}^+$  e deficit della clearance mucociliare nella CF (A,B)
- Secrezione di muco determina la formazione di tappi (C)
- Gradiente ipossico con aumentata penetrazione dei batteri (D)
- Formazione di colonie batteriche e reclutamento dei neutrofili (E,F)



# Patogenesi del danno Bronchiale



# Modelli di analisi genetica per la fibrosi cistica

*Società Italiana di Genetica Medica 2005*

- La frequenza relativa delle mutazioni è quanto mai variabile in relazione all'area geografica: alcune sono molto più rappresentate in particolari popolazioni, altre sono estremamente rare
- La più frequente –  $\Delta F508$  – si concentra nella popolazione dell'Europa settentrionale più che in quella meridionale. In Italia  $\Delta F508$  è la mutazione di gran lunga più frequente (51%); nell'insieme le 12 mutazioni più diffuse caratterizzano il 73% degli alleli responsabili di malattia, con differenze di rilievo tra regioni geografiche limitrofe e addirittura all'interno della stessa regione
- La correlazione tra genotipo e fenotipo non è così stretta da consentire giudizi prognostici sulla sopravvivenza e sull'insorgenza di disturbi respiratori

# CFTR: CORRELAZIONE GENOTIPO/FENOTIPO

**FIBROSI CISTICA**

Insufficienza  
pancreatica

**CFTR ASSOCIATED  
DISEASE**

Pancreas  
Non compromesso

CF Atipica

Malattia monosintomatica

**Fenotipo**

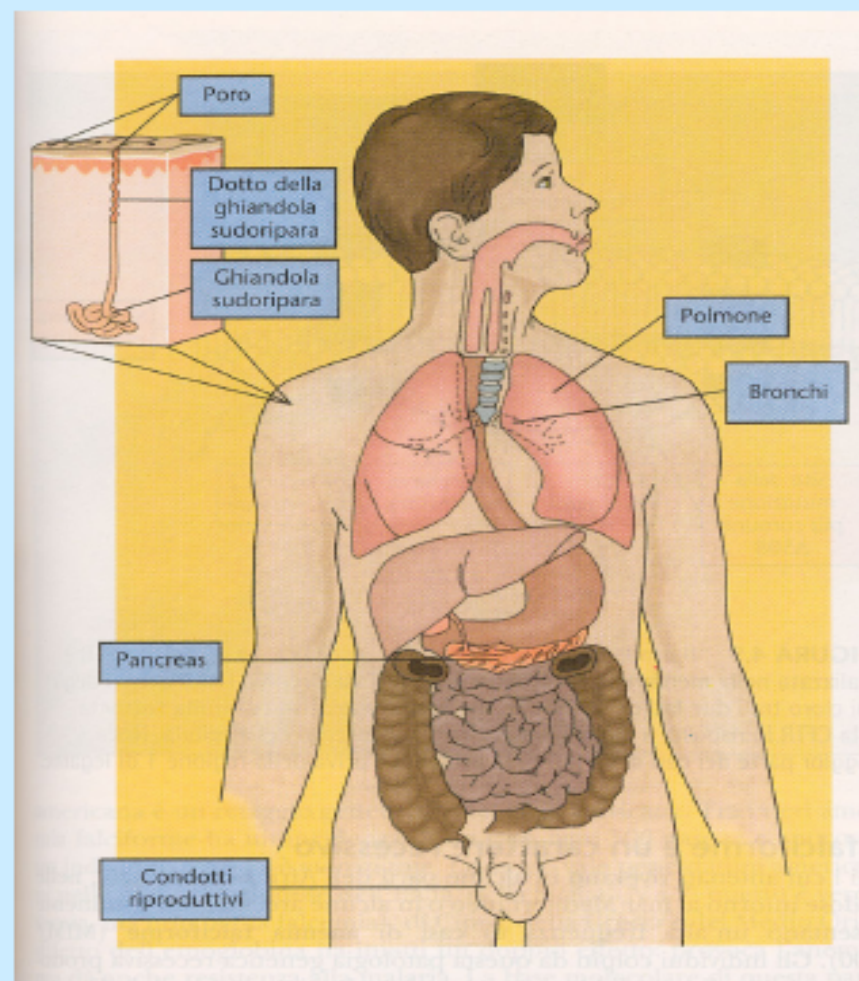
**NO MALATTIA**

wt	wt	Aplotipi Polivarianti	Molto lieve	Lieve	Lieve	Lieve	Severo
wt	altro	Altro	Altro	Altro	Lieve	Severo	Severo

**Genotipo CFTR**

# Gli organi colpiti dalla FC

- Vie aeree: ostruzione e infezione, cause della maggior parte dei decessi
- Pancreas: occlusione dotti e insufficienti enzimi digestivi in 85% dei pazienti
- Intestino: occlusione fecale in 10% dei neonati
- Apparato riproduttivo: 95% dei maschi assenza dotti deferenti. Possibile tappo mucoso uterino
- Ghiandola sudoripara: eccesso di cloro nel sudore, test diagnostico fondamentale



(Cummings – Eredità – EdiSES, 2004)

# Cystic Fibrosis

*Davis PB - Pediatrics in Review 2001; 22: 257-264*

<b><i>Manifestazione</i></b>	<b><i>Età tipica di presentazione</i></b>
<b>Ileo, peritonite da meconio</b>	<b>Neonato</b>
<b>Ittero</b>	<b>Lattante</b>
<b>Alcalosi ipocloremica</b>	<b>Lattante</b>
<b>Colpo di calore</b>	<b>Lattante/adulto (maschio)</b>
<b>Scarso accrescimento</b>	<b>Lattante</b>
<b>Prolasso rettale</b>	<b>Bambino</b>
<b>Poliposi nasale</b>	<b>Bambino/adulto</b>
<b>Sinusite</b>	<b>Bambino</b>
<b>Pancreatite</b>	<b>Bambino</b>

# Cystic Fibrosis

*Davis PB - Pediatrics in Review 2001; 22: 257-264*

<b><i>Manifestazione</i></b>	<b><i>Età tipica di presentazione</i></b>
<b>Calcolosi biliare</b>	<b>Adolescente</b>
<b>Agenesia dotti deferenti/azoospermia</b>	<b>Qualsiasi</b>
<b>Polmoniti ricorrenti o persistenti</b>	<b>Qualsiasi</b>
<b>Polmonite da Stafilococco</b>	<b>Qualsiasi</b>
<b>Presenza di Pseudomonas a livello polmonare</b>	<b>Qualsiasi</b>
<b>Bronchiectasie</b>	<b>Qualsiasi</b>

# **The diagnosis of cystic fibrosis: a consensus statement**

*Rosenstein BJ et al. - J Pediatr 1998;132:589-95*

## **Aspetti fenotipici suggestivi per diagnosi di CF**

### **1. Malattia sinusale e/o polmonare cronica con:**

- a. **Colonizzazione/infezione persistente da patogeni tipici della CF (Stafilococco aureo, Haemofilus influenzae, Pseudomonas Aeruginosa e Burkholderia cepacia)**
- b. **Tosse cronica produttiva**
- c. **Anomalie persistenti alla radiografia del torace (bronchiectasie, atelettasie, infiltrati, iperinflazione)**
- d. **Ostruzione delle vie aeree con wheezing ed air-trapping**
- e. **Poliposi nasale e/o anomalie dei seni paranasali**
- f. **Dita a bacchetta di tamburo**

# **The diagnosis of cystic fibrosis: a consensus statement**

*Rosenstein BJ et al. - J Pediatr 1998;132:589-95*

## **Aspetti fenotipici suggestivi per diagnosi di CF**

### **2. Disordini gastrointestinali e nutrizionali:**

- a. Intestinali: ileo da meconio, sindrome ostruttiva gastrointestinale distale, prolasso rettale**
- b. Pancreatici: insufficienza pancreatica, pancreatite ricorrente**
- c. Epatici: epatite cronica con cirrosi biliare focale o cirrosi multilobulare**
- d. Nutrizionali: scarso accrescimento (malnutrizione),ipoprotidemia ed edema,complicanze secondarie al deficit di vitamine liposolubili**

### **3. Sindrome da perdita di Sali: deplezione acuta di Sali, alcalosi metabolica cronica**

### **4. Anomalie urogenitali nel sesso maschile con azoospermia ostruttiva**

# Nonclassic cystic fibrosis and CFTR-related diseases

*Boyle MP - Current Opinion in Pulmonary Medicine 2003; 9: 498–503*

## CFTR Related Diseases

- **Aspergillosi broncopulmonare allergica**
- **Rinosinusite cronica**
- **Bronchiectasie idiopatiche (variabilità del quadro respiratorio per elevata influenza delle condizioni ambientali)**

# The diagnosis of cystic fibrosis: a consensus statement

*Rosenstein BJ et al. - J Pediatr 1998;132:589-95*

## Criteria per la diagnosi di Fibrosi Cistica

1. Presenza di sintomi polmonari e/o gastrointestinali caratteristici o
2. Anamnesi familiare positiva per Fibrosi Cistica o
3. Positività allo screening neonatale

+

Alterazione della funzione della proteina  
(test del sudore positivo cloro > 60 mEq/litro  
in due o più rilevazioni)

e/o

Presenza di due mutazioni del gene CFTR

# Nonclassic cystic fibrosis and CFTR-related diseases

*Boyle MP - Current Opinion in Pulmonary Medicine 2003; 9: 498–503*

- **La fibrosi cistica atipica non classica (“atipica”) può presentare notevoli difficoltà diagnostiche**
- **Molti pazienti con CF non classica non hanno diagnosi precoce**
- **Individui che presentano un fenotipo CF a livello di almeno uno degli organi bersaglio della malattia e che sono caratterizzati da valori di Cl<sup>-</sup> al test del sudore normali (< 40 mmol/L) o borderline (40–60 mmol/L)**

# Nonclassic cystic fibrosis and CFTR-related diseases

*Boyle MP - Current Opinion in Pulmonary Medicine 2003; 9: 498–503*

- **Soggetti con CF non classica sono portatori di due mutazioni del gene CFTR di cui almeno una di queste è di tipo “lieve” con riduzione dell’espressione e della funzionalità della proteina**
- **E’ caratterizzata da: 1. Agenesia dotti deferenti (CABVD); 2. Pancreatite ricorrente idiopatica; 3. Pneumopatia cronica**
- **La presenza clinica contestuale di malattia polmonare, infezione da pseudomonas, malattia pancreatica o infertilità maschile consente di porre diagnosi di CF atipica malgrado un test del sudore negativo: ciò consente anche la diagnosi precoce**

# Nonclassic cystic fibrosis and CFTR-related diseases

*Boyle MP - Current Opinion in Pulmonary Medicine 2003; 9: 498–503*

- Nei pazienti con CF non classica assume particolare importanza la sequenza di politimina (nT) presente a livello dell' esone 8 di CFTR, per cui si potranno avere i seguenti genotipi:
  - 5T / I, II, III, IV, o V = CBAVD, pancreatite ricorrente o malattia polmonare cronica
  - 5T / R117H = CF Classica
  - 7T / R117H = CBAVD
  - 9T / R117H = Soggetto fenotipicamente normale

# The Relevance of Sweat Testing for the Diagnosis of Cystic Fibrosis in the Genomic Era

*Mishra A et al. - Clin Biochem Rev 2005; 26: 135-153*

- Il sito di applicazione più frequente del cosiddetto “braccialetto” utilizzato per la raccolta del sudore è rappresentato dalla superficie flessoria dell'avambraccio; altri possibili siti: arto superiore, coscia e polpaccio.
- Il sudore è prodotto attraverso somministrazione per via cutanea topica di pilocarpina, farmaco ad azione colinergica: a tale livello è collegato un elettrodo positivo. L'elettrodo negativo è collegato ad una soluzione contenente solfato di magnesio o solfato di potassio
- E' applicata, quindi, una corrente di 0.5 mA con incremento graduale sino a 4 mA (non più di 5 minuti) al fine di far assorbire più rapidamente la pilocarpina



# The Relevance of Sweat Testing for the Diagnosis of Cystic Fibrosis in the Genomic Era

*Mishra A et al. - Clin Biochem Rev 2005; 26: 135-153*

- La pilocarpina, attraverso un aumento intracellulare di  $\text{Ca}^{++}$ , stimola la produzione di sudore con attivazione dei canali del  $\text{Cl}^-$
- Al fine di garantire un risultato preciso è necessaria una produzione minima di sudore pari a  $1\text{g/m}^2/\text{min}$

**La reazione avversa più frequente è l'orticaria localizzata nel punto di applicazione della pilocarpina o dopo la stimolazione elettrica. In entrambi i casi, il test non è da considerarsi valido**

per 30 minuti, durante i quali il bambino non ha alcuna limitazione e può muoversi liberamente.

- Al termine dei 30 minuti la carta assorbente sarà imbevuta di sudore. Essa viene pesata per determinare il peso del sudore prelevato e sottoposta al dosaggio di  $\text{Cl}^-$

# Cystic Fibrosis

*Davis PB - Pediatrics in Review 2001; 22: 257-264*

## Test del Sudore: interpretazione

- **Falsi positivi (~15 %)**
  - Ipotiroidismo
  - Malattia di Addison
  - Glicogenosi
  - Contaminazione del campione (evaporazione)
  
- **Falsi negativi (~12%)**
  - Edema
  - Malnutrizione
  - Mancata diluizione del campione

# Cystic fibrosis in neonates and infants

*Minasian C et al - Early Human Development 2005; 81: 997-1004*

- Durante il periodo neonatale, nei casi di sospetta CF, è di fondamentale importanza valutare la funzionalità pancreatica esocrina.
- Il test più semplice è rappresentato dalla valutazione dei livelli di elastasi nelle feci: tale enzima raggiunge livelli di normalità al terzo giorno di vita (dopo 2 settimane nei neonati pre-termine)
- Livelli  $<200 \mu\text{g/g}$  di feci sono indicativi di una insufficienza pancreatica esocrina (stessi valori già a partire dal 2° mese di vita) e  $< 100 \mu\text{g/g}$  indicano una insufficienza grave.

# Cystic fibrosis in neonates and infants

*Minasian C et al - Early Human Development 2005; 81: 997-1004*

- Le anomalie della differenza di potenziale a livello della mucosa nasale può essere misurata attraverso un catetere a livello del turbinato inferiore
- Valori normali compresi tra 0 e -30 mV. In caso di CF i valori sono in genere inferiori a -34 mV
- Il test non è affidabile nel paziente con infezione delle alte vie respiratorie o con rinite cronica

# Cystic fibrosis in neonates and infants

*Minasian C et al - Early Human Development 2005; 81: 997-1004*

- La diagnosi può essere ulteriormente validata attraverso perfusione del naso con soluzioni di amiloride (farmaco bloccante il trasporto di  $\text{Na}^+$ ) e di isoprenalina/basse dosi di  $\text{Cl}^-$  per stimolare l'attività del CFTR
- L'esame dei potenziali nasali richiede una grande esperienza dell'operatore per risultare affidabile nella diagnosi di CF

# Modelli di analisi genetica per la fibrosi cistica

*Società Italiana di Genetica Medica 2005*

## Tecniche di analisi genetica molecolare

- Possiamo distinguere vari livelli di analisi molecolare che si caratterizzano per diversi tempi di esecuzione, tecnologie e costi:
  - Analisi di I Livello
  - Analisi di II Livello
  - Analisi di III Livello
  
- I test di I livello possono vantare una minore copertura ma consentono l'identificazione di mutazioni note, mentre quelli di II livello hanno una maggiore sensibilità, ma portano a risultati di più difficile interpretazione perché possono individuare sia mutazioni che portano alla malattia sia varianti che non sono patologiche.

# Modelli di analisi genetica per la fibrosi cistica

Società Italiana di Genetica Medica 2005

## Analisi di I livello

L'analisi genetica di I livello consiste nella ricerca delle mutazioni più frequenti nella popolazione.

- **Reverse Dot Blot (RDB):** La tecnica prevede una reazione polimerasica a catena (PCR) multipla in grado di amplificare differenti regioni del gene.
- **Amplification Refractory Mutation Systems (ARMS):** una delle tecniche più utilizzate per la rapidità, l'affidabilità e l'uso di materiali non radioattivi. Prevede una reazione polimerasica a catena in cui uno dei due *primer* è costruito in modo che il nucleotide in posizione 3' sia complementare alla sequenza mutata del gene o a quella normale
- **Oligonucleotide Specific Allele (ASO):** I prodotti di una reazione polimerasica a catena multipla vengono denaturati, applicati su una membrana di nitrocellulosa e ibridati con oligonucleotidi marcati complementari alla sequenza normale o a quella mutata.

# Modelli di analisi genetica per la fibrosi cistica

*Società Italiana di Genetica Medica 2005*

## Analisi di II livello

L'analisi genetica di II livello utilizza sistemi di *scanning* del gene che permettono il riconoscimento di variazioni di sequenza in definite porzioni codificanti e nelle regioni di *splicing* del gene *CFTR*.

- **Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE):** La tecnica sfrutta il principio che la temperatura di denaturazione del DNA ( $T_m$ ) dipende dalla sua sequenza nucleotidica ed è peculiare per ogni frammento.
- **Denaturing High Performance Liquid Chromatography (DHPLC):** Questa tecnica è l'evoluzione del DGGE verso una procedura automatica e permette l'identificazione di varianti nucleotidiche in brevissimo tempo.
- **Sequenziamento diretto del DNA:** Le tecniche precedentemente descritte permettono all'operatore di riconoscere variazioni di sequenza del DNA la cui caratterizzazione molecolare avviene in seguito per sequenziamento della specifica regione del gene.

# Modelli di analisi genetica per la fibrosi cistica

*Società Italiana di Genetica Medica 2005*

## Analisi di III livello

Nel 10-15% dei soggetti affetti non si riesce a identificare la o le mutazioni responsabili della malattia nonostante l'analisi di tutte le porzioni codificanti e le regioni di *splicing* del gene.

- Si utilizza una tecnica semiquantitativa detta **Quantitative Multiplex Polymerase Chain Reactions of Short Fluorescent Fragments (QMPSF)** che consiste nell'amplificazione simultanea di piccoli frammenti di DNA seguita dalla quantificazione della fluorescenza di ciascun frammento amplificato.

# Modelli di analisi genetica per la fibrosi cistica

*Società Italiana di Genetica Medica 2005*

## Analisi molecolare in particolari situazioni diagnostiche Diagnosi prenatale

- In questo contesto la diagnosi prenatale è intesa come l'analisi molecolare su materiale fetale quando entrambi i genitori siano portatori di una mutazione che causa la malattia.
- La diagnosi prenatale secondo la definizione qui adottata si differenzia nettamente dalla pratica del *testing* fetale, vale a dire l'analisi molecolare eseguita su DNA fetale estratto da villi coriali o amniociti, in assenza di indicazione specifica.

# Modelli di analisi genetica per la fibrosi cistica

*Società Italiana di Genetica Medica 2005*

## Screening neonatale

- Lo screening neonatale per fibrosi cistica si compone di un sistema di analisi a più livelli (step).
- Il primo consiste nel dosaggio del tripsinogeno immunoreattivo (IRT) in tutti i neonati. Nei neonati con valori di IRT superiori al 98° centile viene eseguita l'analisi molecolare delle mutazioni più rappresentate localmente (secondo step)
- La presenza di due mutazioni consente di porre diagnosi di malattia, qualora se ne individui una sola il neonato viene richiamato e sottoposto al test del sudore (terzo step)
- In alcune regioni la sensibilità dei kit standard per l'analisi di mutazioni è troppo limitata, si sceglie quindi di integrare il protocollo di screening con un secondo dosaggio dell'IRT, eseguito dopo un mese di vita nei neonati positivi al primo step

# Modelli di analisi genetica per la fibrosi cistica

*Società Italiana di Genetica Medica 2005*

- Alcuni di questi neonati sono eterozigoti composti, in cui la seconda mutazione è una mutazione rara e, pur essendo negativi al test del sudore, possono essere affetti da forme atipiche di fibrosi cistica o da altre patologie correlate ad anomalie del gene CFTR
- C'è a tutt'oggi poca chiarezza sulla possibile evolutività di queste forme, ma è ragionevole ipotizzare un coinvolgimento clinico modesto che non giustifica una diagnosi precoce perché costituirebbe una notevole fonte di inquietudine, trattandosi di una diagnosi eseguita in epoca neonatale per una condizione non ben definita.
- E' indicato, quindi, analizzare nel secondo step dello screening neonatale solamente mutazioni che causano forme classiche di malattia, e riservare eventuali approfondimenti di analisi genetica a casi mirati, di difficile definizione diagnostica (ipertripsinemia persistente, test del sudore dubbio)

# Newborn screening methods for cystic fibrosis

*Wilcken B - PAEDIATRIC RESPIRATORY REVIEWS 2003; 4: 272–277*

## Vantaggi e svantaggi di differenti protocolli di screening

<b>Protocollo di screening</b>	<b>Vantaggi</b>	<b>Svantaggi</b>
<b>Meconio (albumina, lattasi)</b>	<b>Basso costo</b>	<b>Scarsa sensibilità e specificità</b>
<b>Tripsinogeno Immuno-Reattivo (IRT)</b>	<b>Buon valore predittivo positivo dopo il 2° test</b>	<b>Necessità di un 2° test</b>
<b>IRT/DNA</b>	<b>No 2° test IRT. Buona sensibilità e specificità</b>	<b>Tutti i falsi positivi sono portatori di CF (consulenza genetica)</b>

## 2005: 14 centri di su 27 effettuano lo screening neonatale per la CF (copertura 77%)

Centro	Esaminati	Analita	Riesaminati		Diagn.	Metodo	Indagine molec.	incidenza (1: X)
			N.	%				
Bologna	39685	IRT	461	1.16	4	FIA	NO	9921
Caltanissetta	8093	IRT	56	0.69	-	FIA	NO	
Catania	22697	IRT	314	1.38	5	FIA	NO	4539
Catanzaro	18258	IRT	326	1.79	4	FIA	NO	4565
Fano	14220	IRT	198	1.39	2	FIA	SI	7110
Firenze	31835	IRT + lattasi	225	0.71	6	FIA	NO	5306
Genova	12115	IRT	81	0.67	2	FIA	NO	6058
Messina	5578	IRT	115	2.06	-	FIA	NO	
Milano	94244	IRT	1610	1.71	27	FIA	SI	3491
Palermo	20700	IRT	244	1.18	4	FIA	SI	5175
Roma CRI	36980	IRT	883	2.39	9 *	RIA	SI	4109
Roma Sapienza	27591	IRT	360 ?	1.30	7	FIA	SI	3942
Torino	37580	IRT	109	0.29	12	FIA	SI	3132
Verona	56391	IRT	666	1.18	10	FIA	SI	5639
<b>TOTALE</b>	<b>425967</b>		<b>5648</b>	<b>1.33</b>	<b>92</b>		<b>7/14</b>	<b>4630</b>

# POTENTIAL IMPACT OF NEWBORN SCREENING FOR CYSTIC FIBROSIS ON CHILD SURVIVAL: A SYSTEMATIC REVIEW AND ANALYSIS

*Grosse SD et al. – J Pediatr 2006;149:362-6*

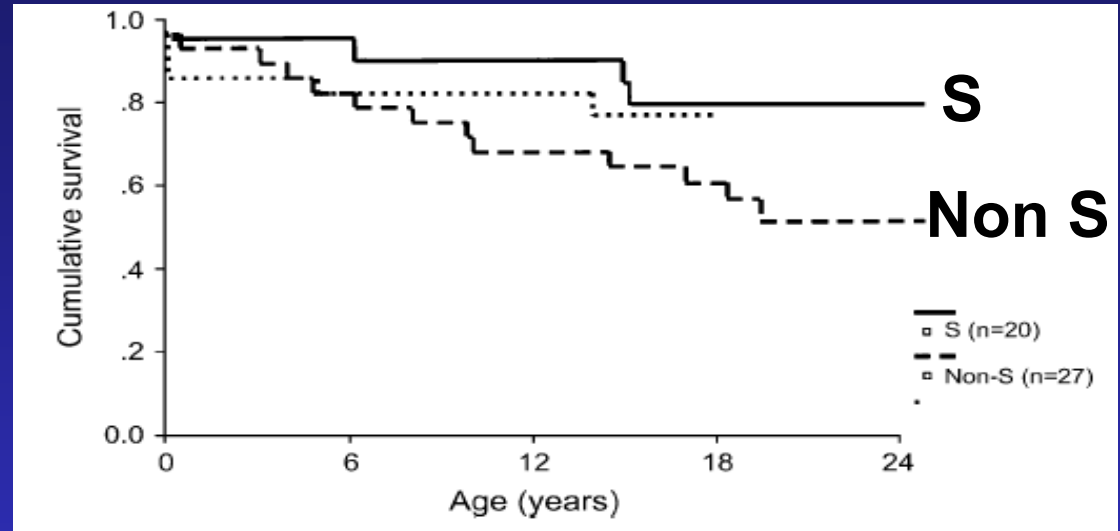
- Screening neonatale (NBS) e mortalità in bambini con CF senza ileo da meconio
- Maggiore sopravvivenza nei bambini con CF sottoposti a NBS

NBS state	Children (deaths)	Risk	Risk difference (P value)	Risk ratio
Yes	154 (1)	0.65	1.70	3.62
No	3147 (74)	2.35		
Probability value			.13	0.13

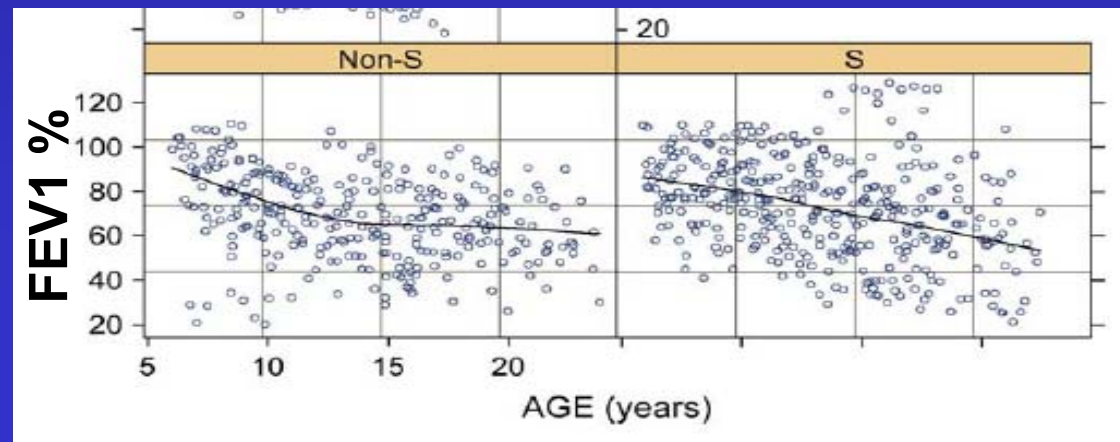
# REVIEW OF OUTCOMES OF NEONATAL SCREENING FOR CYSTIC FIBROSIS VERSUS NON-SCREENING IN EUROPE

*Dankert-Roelse JE et al - J Pediatr 2005;147:S15-S20*

- Sopravvivenza all'età di 24 anni in pazienti affetti da CF sottoposti a screening neonatale (S) e non sottoposti a screening neonatale (non S)



- Funzionalità respiratoria all'età di 24 anni in pazienti affetti da CF sottoposti a screening neonatale (S) e non sottoposti a screening neonatale (non S)



# Screening neonatale: falsi negativi

*Winterdijk P, et al - Geneeskd. 2004;148:1931-4*

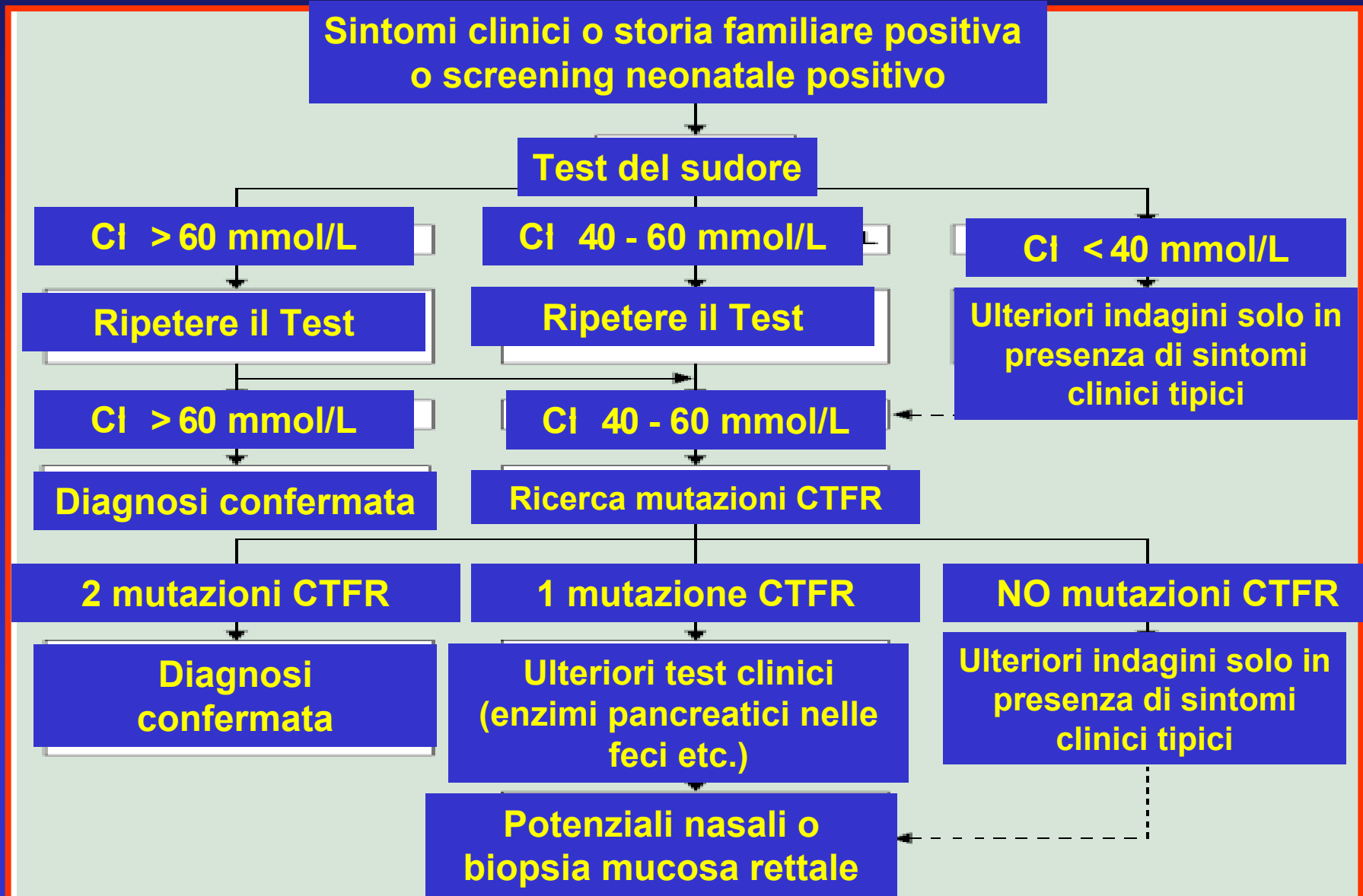
## *Ileo da meconio con IRT negativa:*

*Nel 25% dei soggetti con ileo da meconio la IRT è < cut off*

**Escludere FC in tutti i casi di occlusione intestinale neonatale  
→ Segnalazione sul cartoncino Guthrie dell'occlusione  
intestinale (analisi genetica anche con IRT negativa!)**

# Cystic fibrosis

Ratjen F - Lancet 2003; 361: 681-89



# Cystic fibrosis in neonates and infants

*Minasian C et al - Early Human Development 2005; 81: 997-1004*

## Gestione patologia respiratoria

- Sebbene i neonati con CF siano caratterizzati da polmoni normali alla nascita, si determina molto rapidamente un'infezione ed una flogosi cronica
- I neonati con CF non screenati alla nascita sono caratterizzati da ostruzione delle vie aeree che non migliora con le appropriate terapie
- Questo dimostra l'importanza dell'adozione precoce nei neonati con CF di terapie antibiotiche ed antiinfiammatorie anche in assenza di segni e sintomi conclamati di malattia

# Cystic fibrosis in neonates and infants

*Minasian C et al - Early Human Development 2005; 81: 997-1004*

## Gestione patologia respiratoria

- Diagnosi e terapia precoce dell'infezione da *Pseudomonas aeruginosa* mediante l'utilizzo combinato di antibiotici per os (ciprofloxacina) e per via aerosolica (tobramicina)
- Eventuale trattamento di reflusso gastro-esofageo coesistente
- Farmaci broncodilatatori e steroidi per via inalatoria dovrebbero essere utilizzati solo in caso di evidente beneficio clinico per il paziente

# Advances in cystic fibrosis therapies

*Rowe SM, Clancy JP – Curr Opin Pediatr 2006;18:604-613*

## Gestione patologia respiratoria

- **Fisioterapia toracica, vibropercussione, espirazione a pressione positiva (manovre meccaniche di clearance)**
- **DNAasi ricombinante per via aerosolica (aumento della clearance)**
- **Soluzione salina ipertonica per via aerosolica (reidratazione delle vie aeree, aumento della clearance)**

# Advances in cystic fibrosis therapies

*Rowe SM, Clancy JP – Curr Opin Pediatr 2006;18:604-613*

## Gestione patologia respiratoria – Terapia anti microbica

- **Stafilococco aureo – Haemophilus Influenzae : lattanti, età pre-scolare**
- **Pseudomonas aeruginosa – Burkholderia Cepacia e Dolosa:età scolare e successive.**
- **L'infezione da Pseudomonas a. è impossibile da eradicare perché questo microorganismo è in grado di proteggersi sintetizzando uno strato superficiale di alginato, molecola che riduce la penetrazione degli antibiotici**

# Advances in cystic fibrosis therapies

*Rowe SM, Clancy JP – Curr Opin Pediatr 2006;18:604-613*

## Gestione patologia respiratoria – Terapia anti microbica

- Cefalosporine di III generazione + Aminoglicosidi  
o Fluorochinolonici
- Tobramicina o Colistina (via inalatoria – Pseudomonas a.)
- Macrolidi (panbronchiolite da Pseudomonas a.)

# Advances in cystic fibrosis therapies

*Rowe SM, Clancy JP – Curr Opin Pediatr 2006;18:604-613*

## Gestione patologia respiratoria – Terapia antiinfiammatoria

- **Corticosteroidi sistemici (prednisone 1 mg/kg/die)**
- **FANS ( ipubrofene ad alte dosi inibisce la chemiotassi dei neutrofili per effetto inibitorio diretto sulla ciclossigenasi e riduce la sintesi di prostaglandine**
- **N-acetil-cisteina ( aumenta la concentrazione di glutatione nei neutrofili e l'elastasi nello sputum di pazienti con CF)**

# Cystic fibrosis in neonates and infants

*Minasian C et al - Early Human Development 2005; 81: 997-1004*

## Gestione nutrizionale

- I bambini con CF in cui è stato ritardata la gestione terapeutica presentano un accrescimento staturale-ponderale ritardato e deficit neurocognitivo (in caso di bassi livelli sierici di Vitamina E) all'età di 10 anni rispetto a coetanei con CF diagnosticata precocemente
- La terapia precoce standard si basa sull' utilizzo di enzimi pancreatici e sulla supplementazione dietetica di vitamine liposolubili
- Gli enzimi pancreatici devono essere somministrati sia in caso di insufficienza pancreatica conclamata sia in caso di genotipo particolarmente aggressivo con funzionalità pancreatica conservata.