

Fibrosi cistica: aspetti genetici

Marco Lucarelli

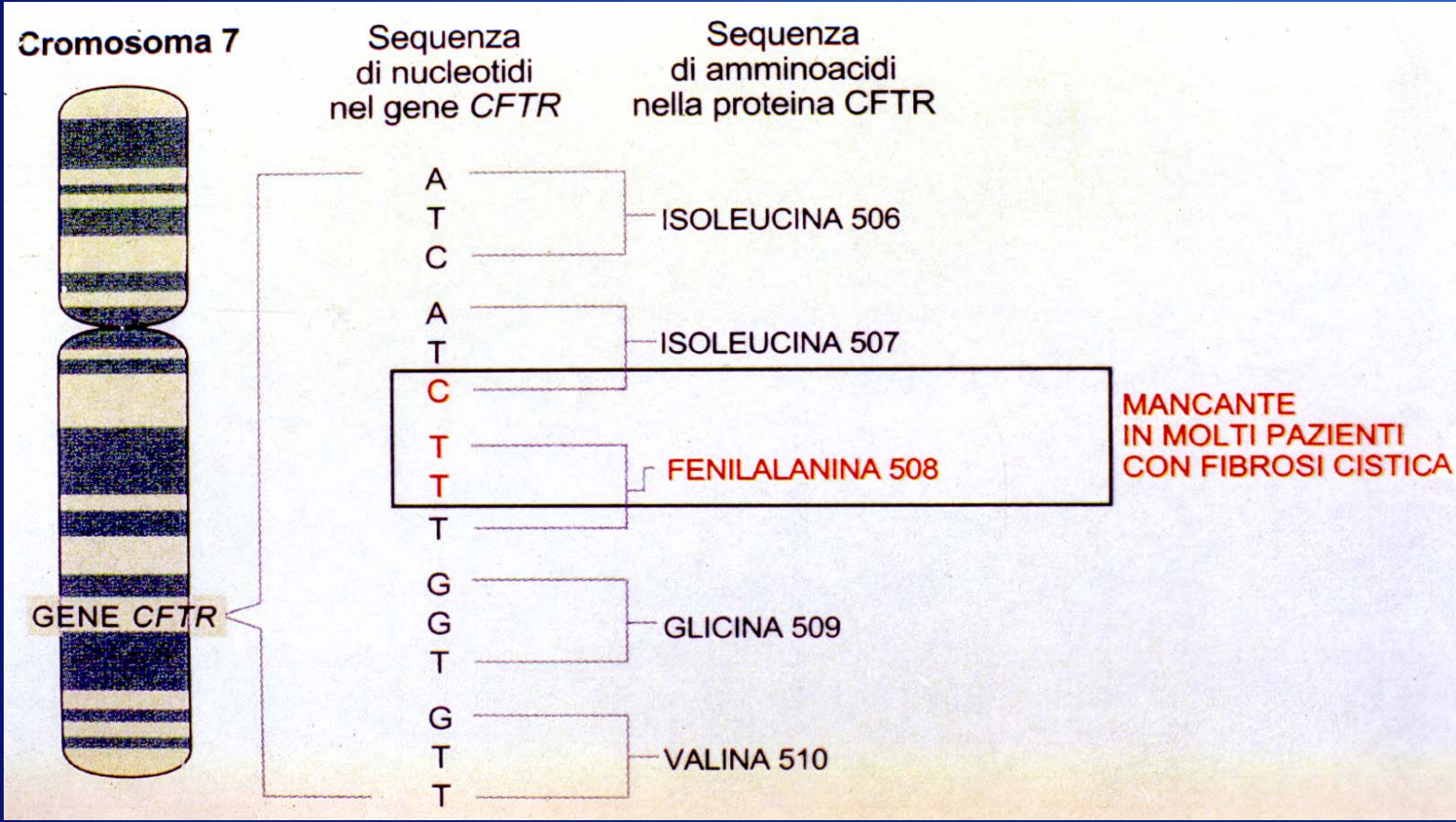
Dip. Biotecnologie Cellulari ed Ematologia

I Facoltà di Medicina e Chirurgia

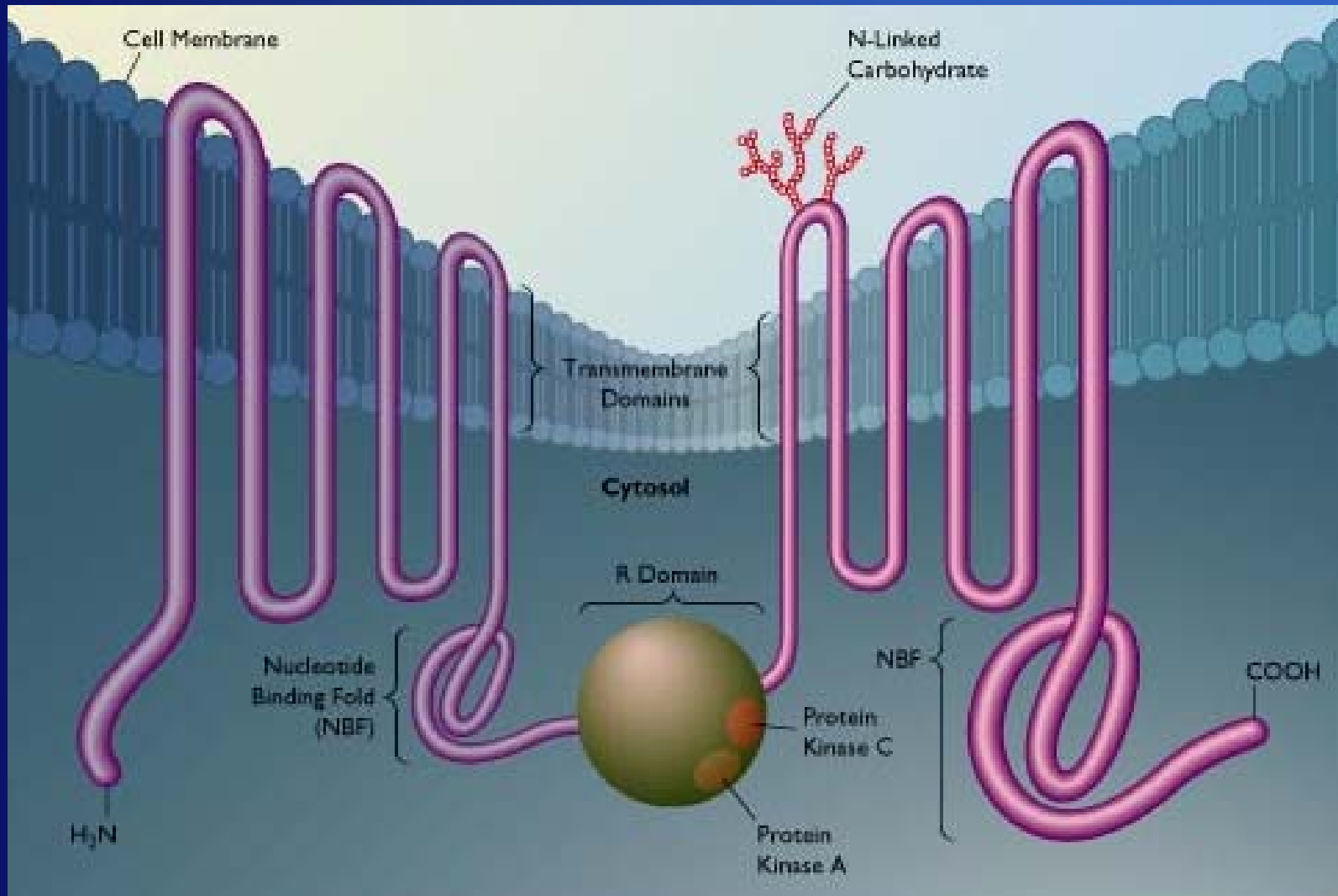
Università degli Studi di Roma “La Sapienza”

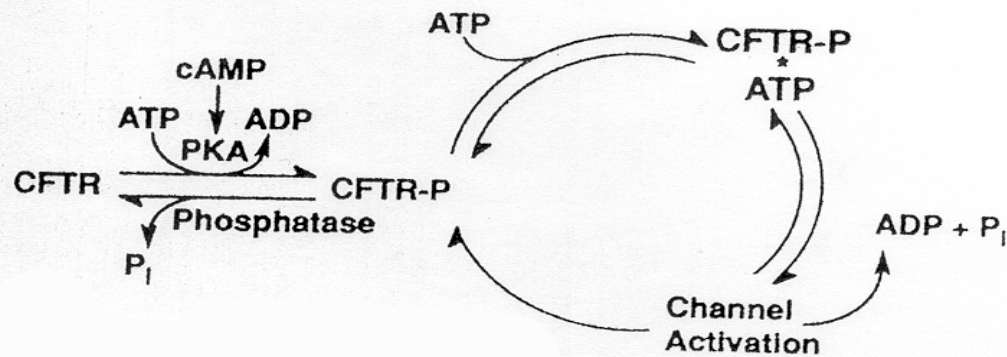
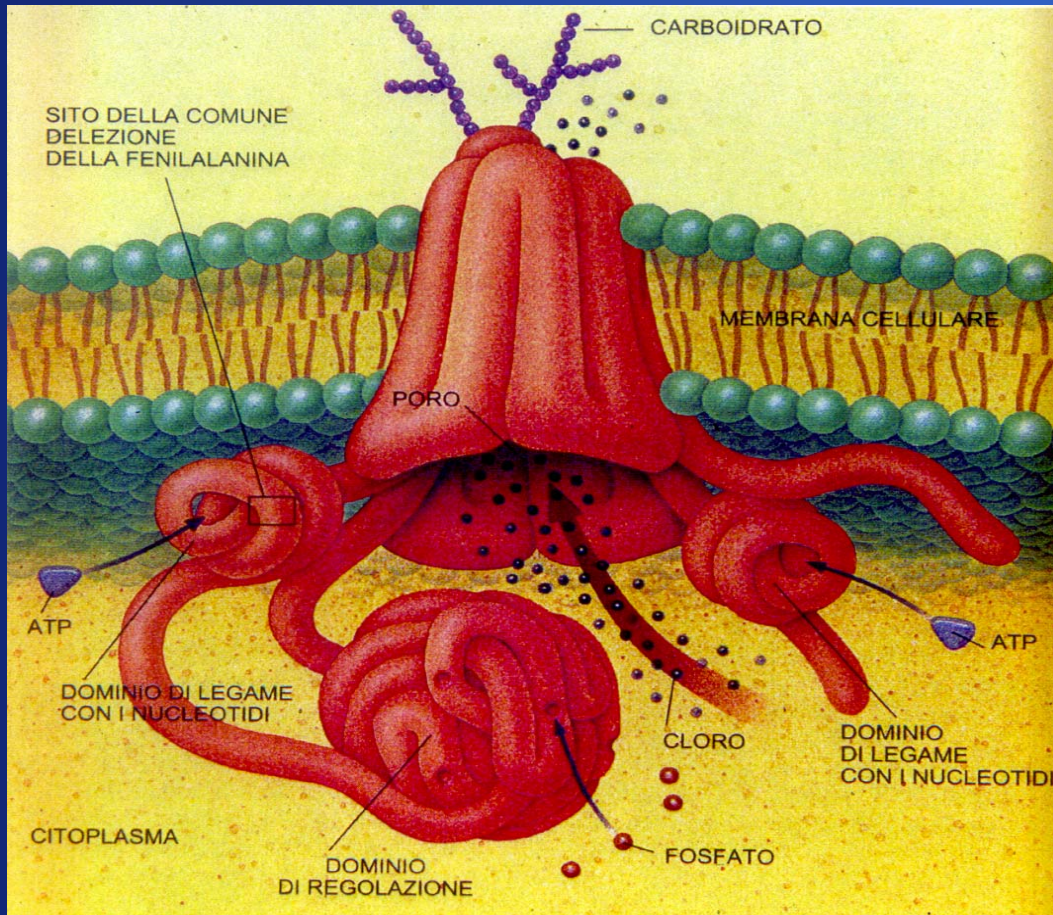
Sede di Latina

La Fibrosi Cistica è una malattia monogenica, autosomica, recessiva

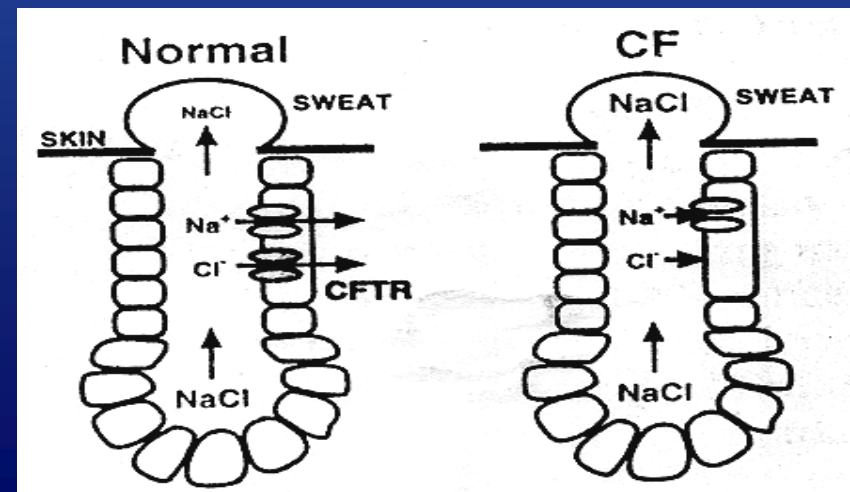
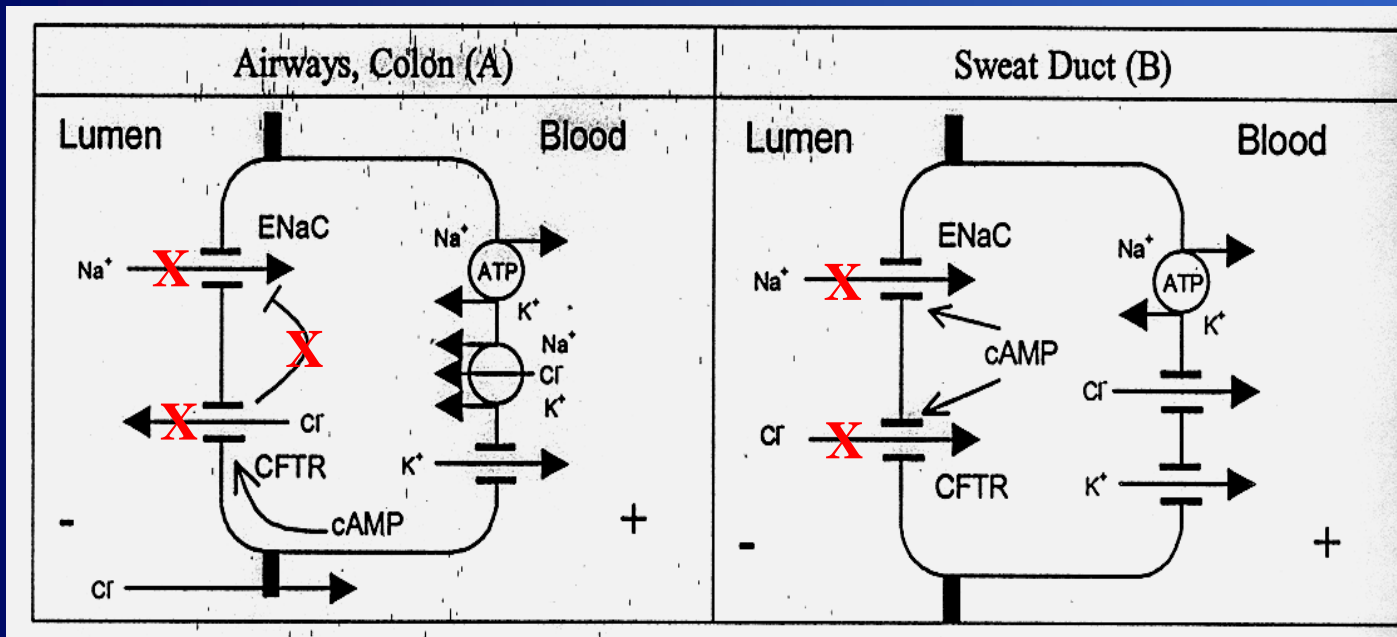


Il cftr è una proteina transmembrana con funzioni di canale ionico





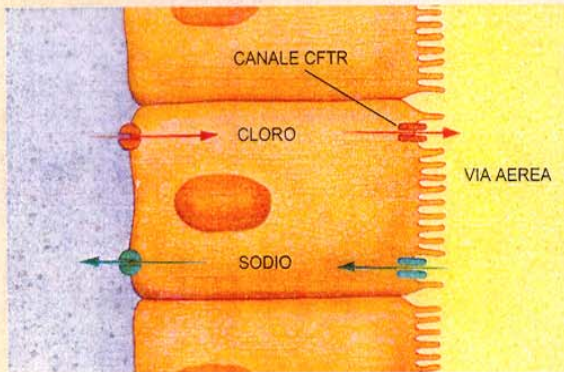
La proteina cftr è un trasportatore del Cl⁻ ma regola il trasporto anche di altri ioni (Na⁺, HCO₃⁻)



La proteina cftr è un trasportatore ionico ma è anche un recettore batterico (*Pseudomonas aeruginosa*)

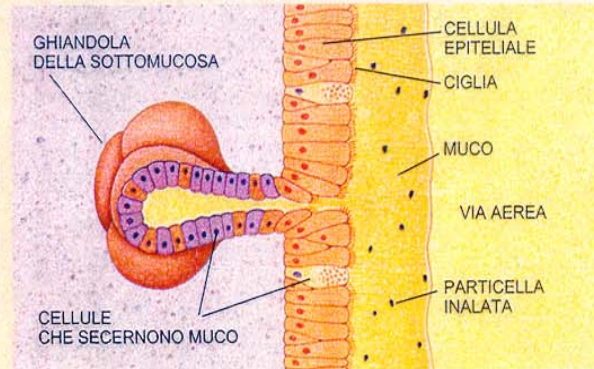
CELLULE EPITELIALI

Il cloro è escreto nella via aerea e il sodio ne è rimosso.



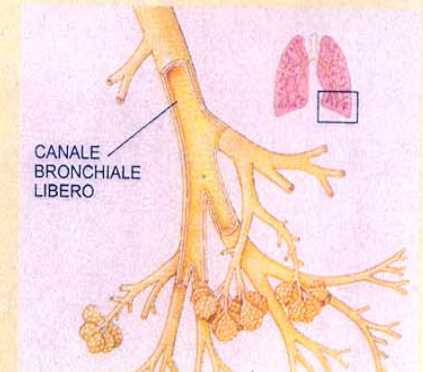
SEZIONE DELL'EPITELIO E DELLA VIA AEREA

Muco scorrevole e poco denso intrappola le particelle inalate; le ciglia lo spingono verso le prime vie aeree perché sia rimosso.

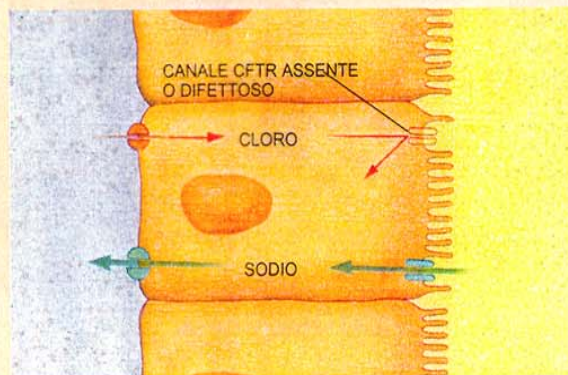


BRONCHI E BRONCHIOLI

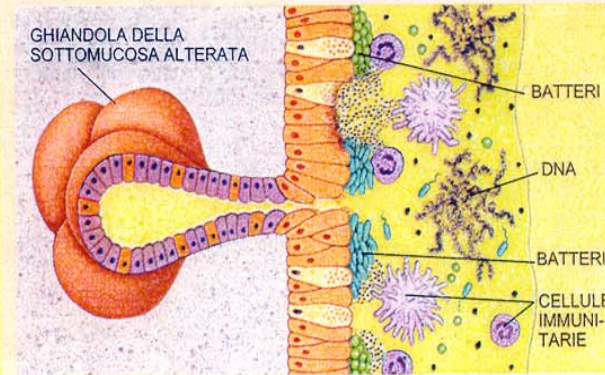
Le vie aeree sono libere e permettono la normale respirazione.



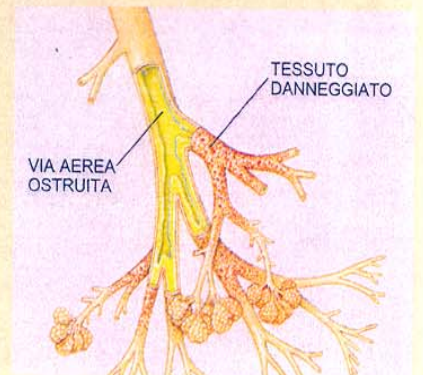
Il cloro non può lasciare la cellula, e l'assorbimento di sodio è incrementato.



Il muco diventa denso e difficile da rimuovere. I batteri proliferano e attraggono le cellule immunitarie, che possono danneggiare i tessuti sani. Il DNA liberato da batteri e cellule polmonari aumenta la densità del muco.



Le vie aeree si ostruiscono e cominciano a essere danneggiate.



Gli organi colpiti dalla fibrosi cistica

Il difetto genetico che è alla base della fibrosi cistica compromette il funzionamento di diversi organi, facendo sì che dotti e canali vengano ostruiti, di solito da muco denso o da altre secrezioni.

VIE AEREE

L'ostruzione e l'infezione delle vie bronchiali impedisce la respirazione. Le infezioni che distruggono progressivamente i polmoni sono responsabili di gran parte delle morti dovute alla fibrosi cistica.

FEGATO

Il blocco dei dotti biliari compromette la digestione e la funzionalità epatica nel 5 per cento dei pazienti circa.

PANCREAS

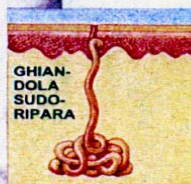
L'occlusione dei dotti, nell'85 per cento dei pazienti, impedisce al pancreas di liberare fondamentali enzimi nel tubo digerente; a volte provoca anche il diabete.

INTESTINO TENUE

L'occlusione del canale intestinale da parte di feci compatte richiede l'intervento chirurgico in circa il 10 per cento dei neonati.

APPARATO RIPRODUTTIVO

L'assenza dei dotti deferenti rende sterile il 95 per cento dei maschi. Anche le donne possono essere rese sterili da un «tappo» di muco denso che impedisce l'ingresso del seme nell'utero.



CUTE

Il malfunzionamento delle ghiandole sudoripare fa sì che il sudore contenga quantità eccessive di sale (cloruro di sodio). La misurazione del contenuto di cloro nel sudore è importantissima per la diagnosi.

Incidenza in Italia 1 : 2700

Portatori 1 : 26

Incidenza nel Lazio 1 : 2900

Portatori 1 : 27

La Fibrosi Cistica si manifesta con forme cliniche molto differenziate:

Polisintomatiche, gravi (tipiche)

Oligosintomatiche

Monosintomatiche, lievi (atipiche)

Dal 1998 al 2005

4181 quesiti diagnostici per FC rivolti al
Centro di Riferimento Regionale

3908 negativi

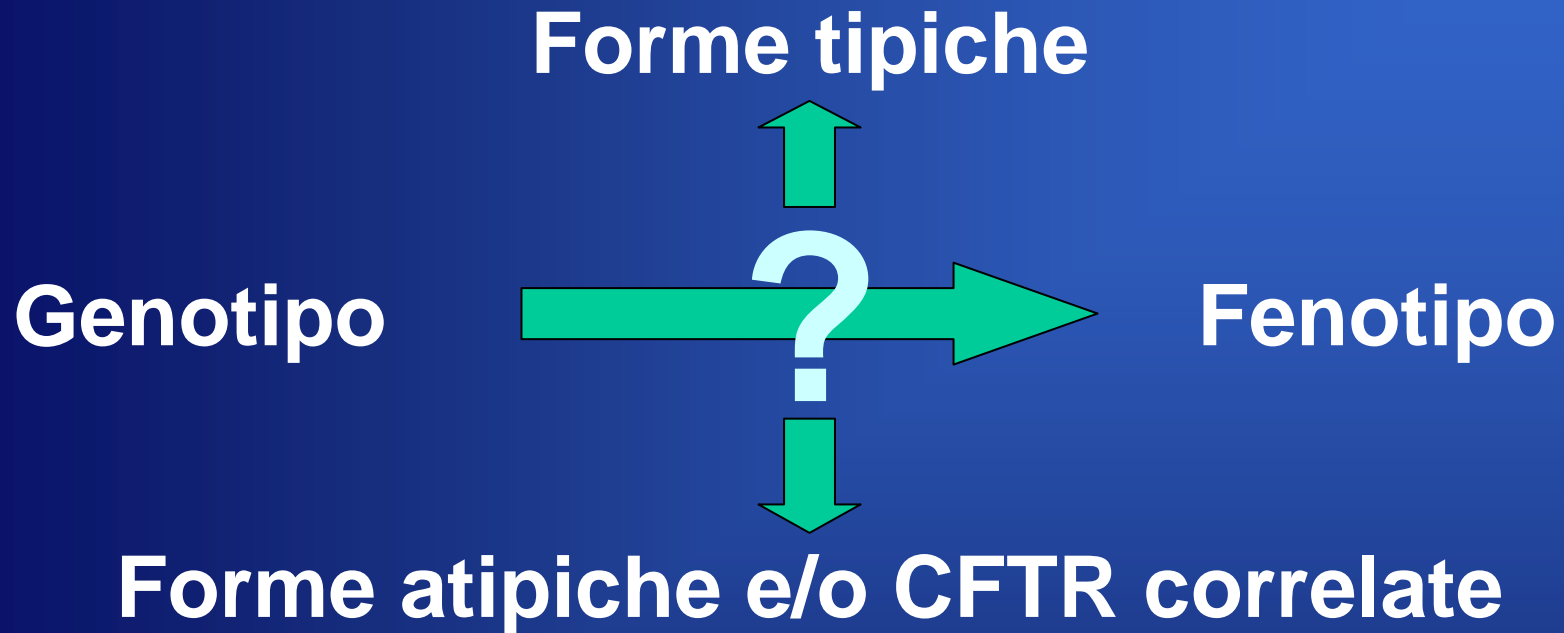
273

144 diagnosi di forme tipiche di FC

129 diagnosi incerte:
forme atipiche di FC
e/o forme CFTR
correlate?

**Il 47% dell'impegno diagnostico è rivolto alla definizione di
forme atipiche di FC e/o di forme CFTR correlate**

oligo- polisintomatiche:
con o senza pancreas sufficienza



oligo- monosintomatiche:

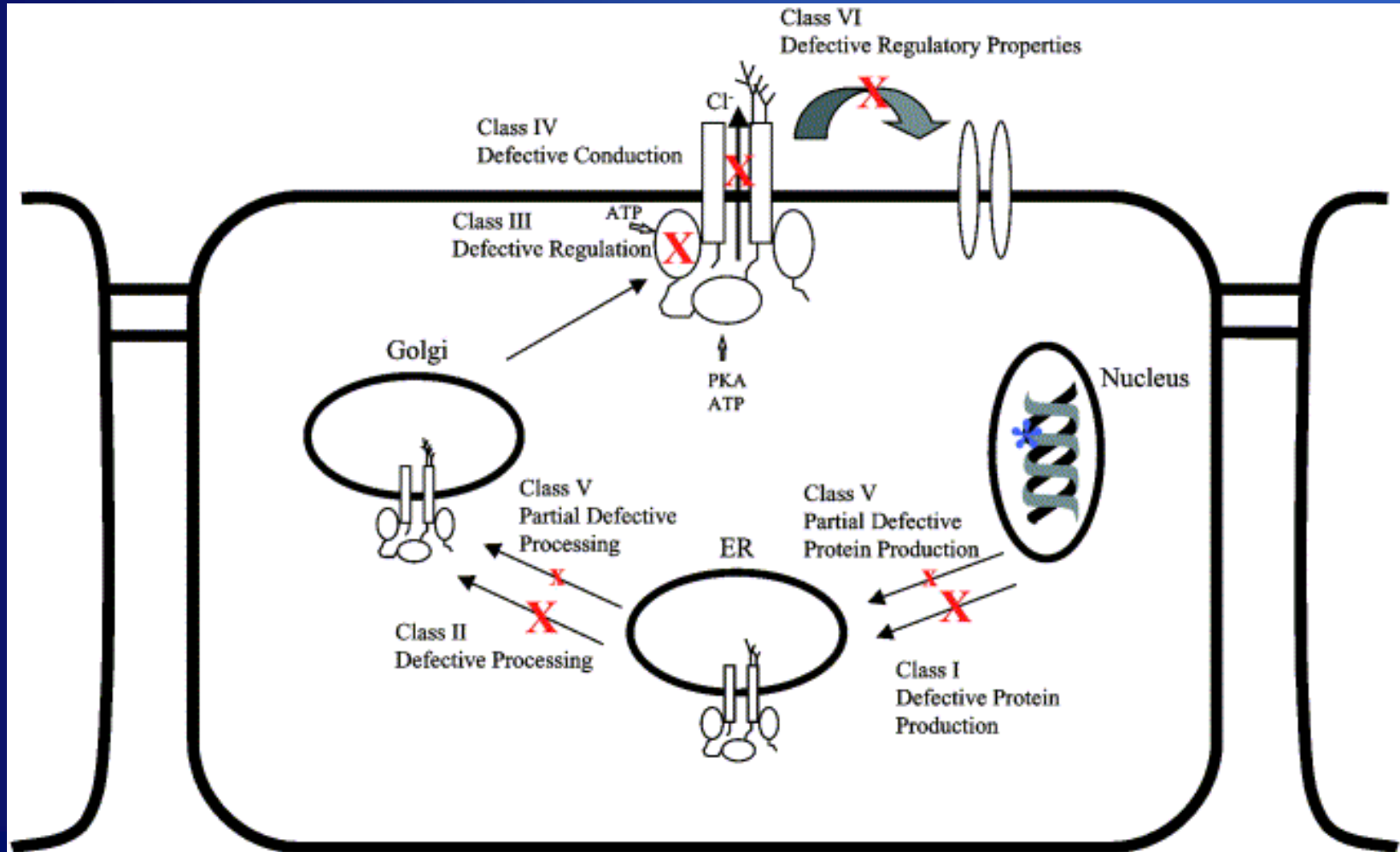
Assenza congenita bilaterale dei vasi deferenti (CBAVD)	
Ipertripsinemia neonatale	Bronchiectasie disseminate
Pancreatiti croniche idiopatiche	
Bronchiti croniche	Rino-sinusiti croniche
Poliposi nasale	Episodi di disidratazione

Un modello di correlazione genotipo - fenotipo nella Fibrosi Cistica

Genotipo CFTR			% CFTR	Fenotipo clinico
N/N	T ₉ /T ₉ T ₉ /T ₇	(TG) ₁₀ /(TG) ₁₀ (TG) ₁₀ /(TG) ₁₁	100	NORMALE
N/CFm	T ₇ /T ₇ T ₉ /T ₅	(TG) ₁₁ /(TG) ₁₁ (TG) ₁₀ /(TG) ₁₂	50	CBAVD SCH Dispermie?
N/CF	T ₇ /T ₅ T ₅ /T ₅	(TG) ₁₁ /(TG) ₁₂ (TG) ₁₂ /(TG) ₁₂		
CFm/CFm				Bronchiectasie Poliposi nasale Pancreatiti croniche Rino-sinusiti croniche
CF/CFm				FIBROSI CISTICA: con sufficienza pancreatica
CF/CF			0	con insufficienza pancreatica

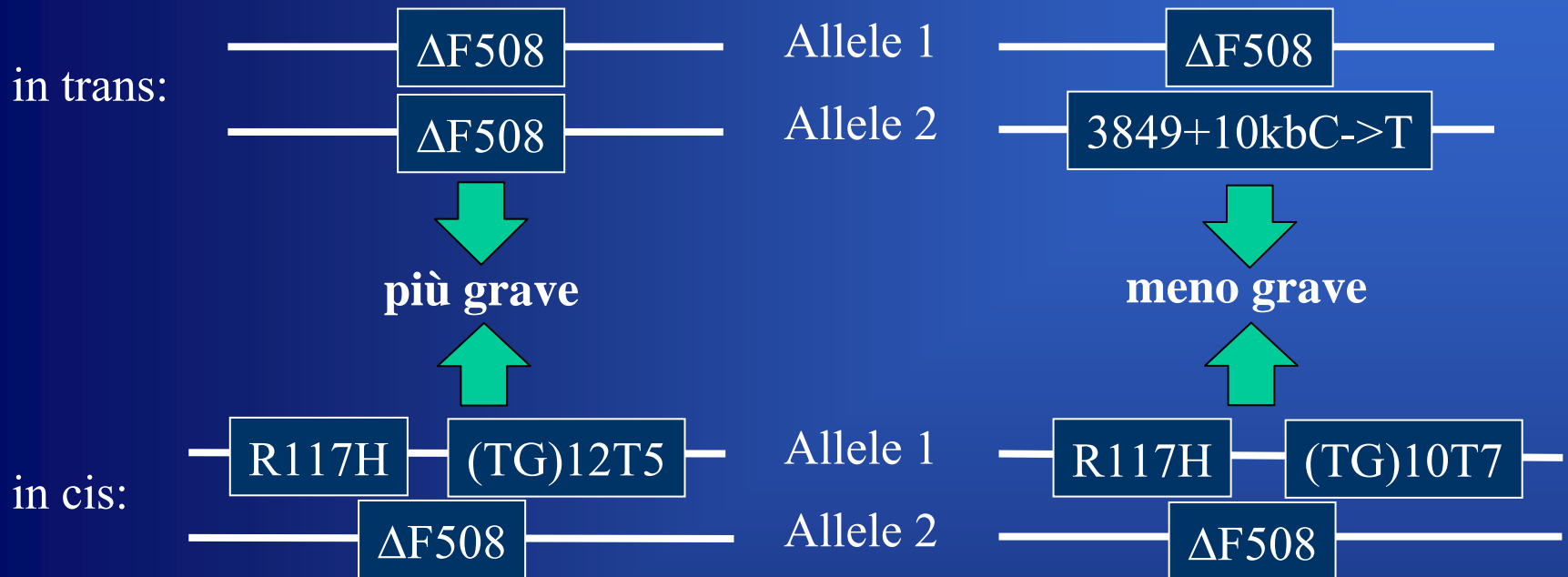
Gene molto esteso (oltre 250 000 nucleotidi):
variazioni nella sequenza del DNA molto numerose

- oltre 1000 mutazioni causa di malattia
- oltre 200 polimorfismi



Fonti di variabilità genetica nella Fibrosi Cistica

Intrageniche: combinazioni di diverse mutazioni del CFTR



extrageniche: effetto di altri geni (diversi dal CFTR) modificatori del fenotipo

- altri canali ionici
- immunomodulatori
- vie biochimiche ossidative

I FASE: pannello generale di mutazioni

(saggio PCR/OLA/SCS)

II FASE: pannello regionale di mutazioni

(saggio SNaPshot, minisequencing)

III fase: scansione genomica

(cycle sequencing)

Analisi genetica multistep (I e II livello)

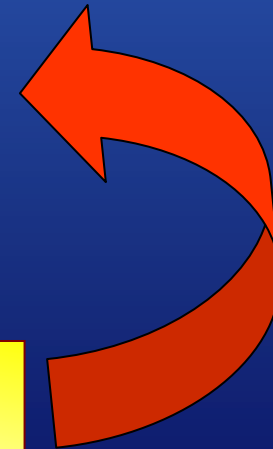
31 mutazioni in PCR/OLA/SCS
sensibilità 77,6 %



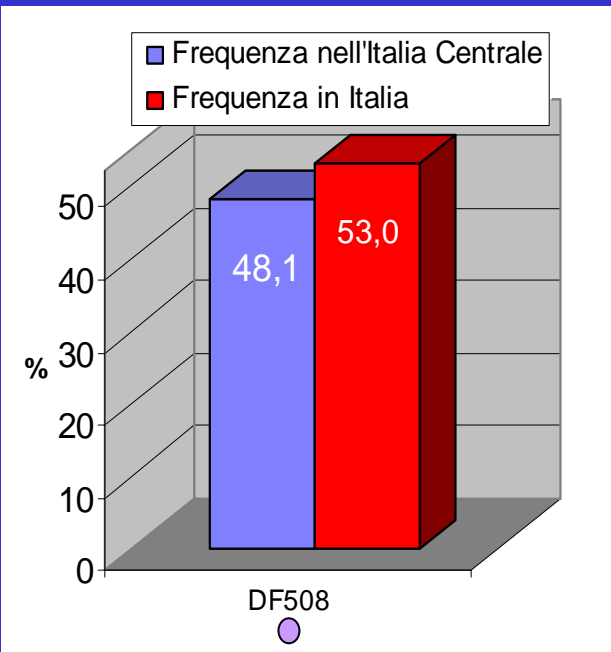
SNaPshot ↑
sensibilità 87,8 %



Sequenziamento completo
(sensibilità superiore al 95%)

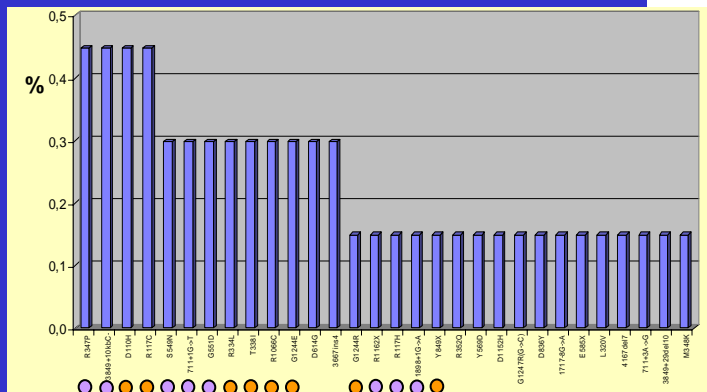
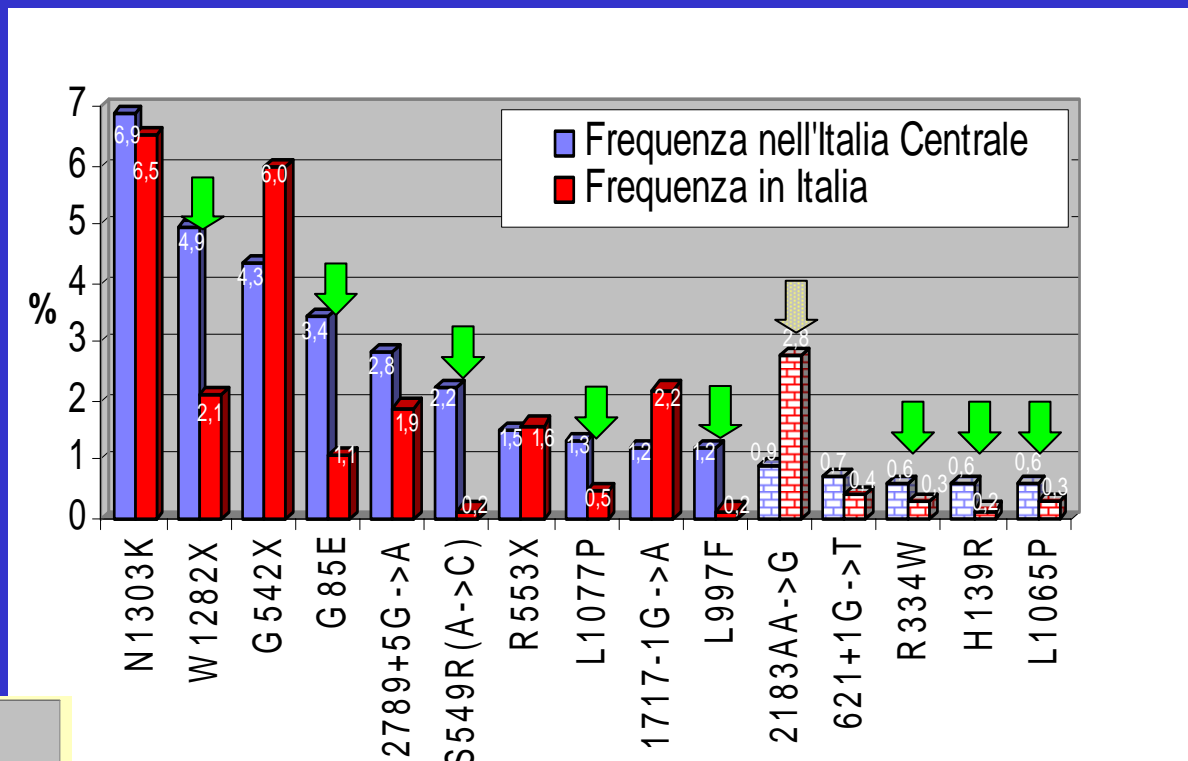


Frequenze delle mutazioni classiche del CFTR in forme tipiche di FC dell'Italia Centrale



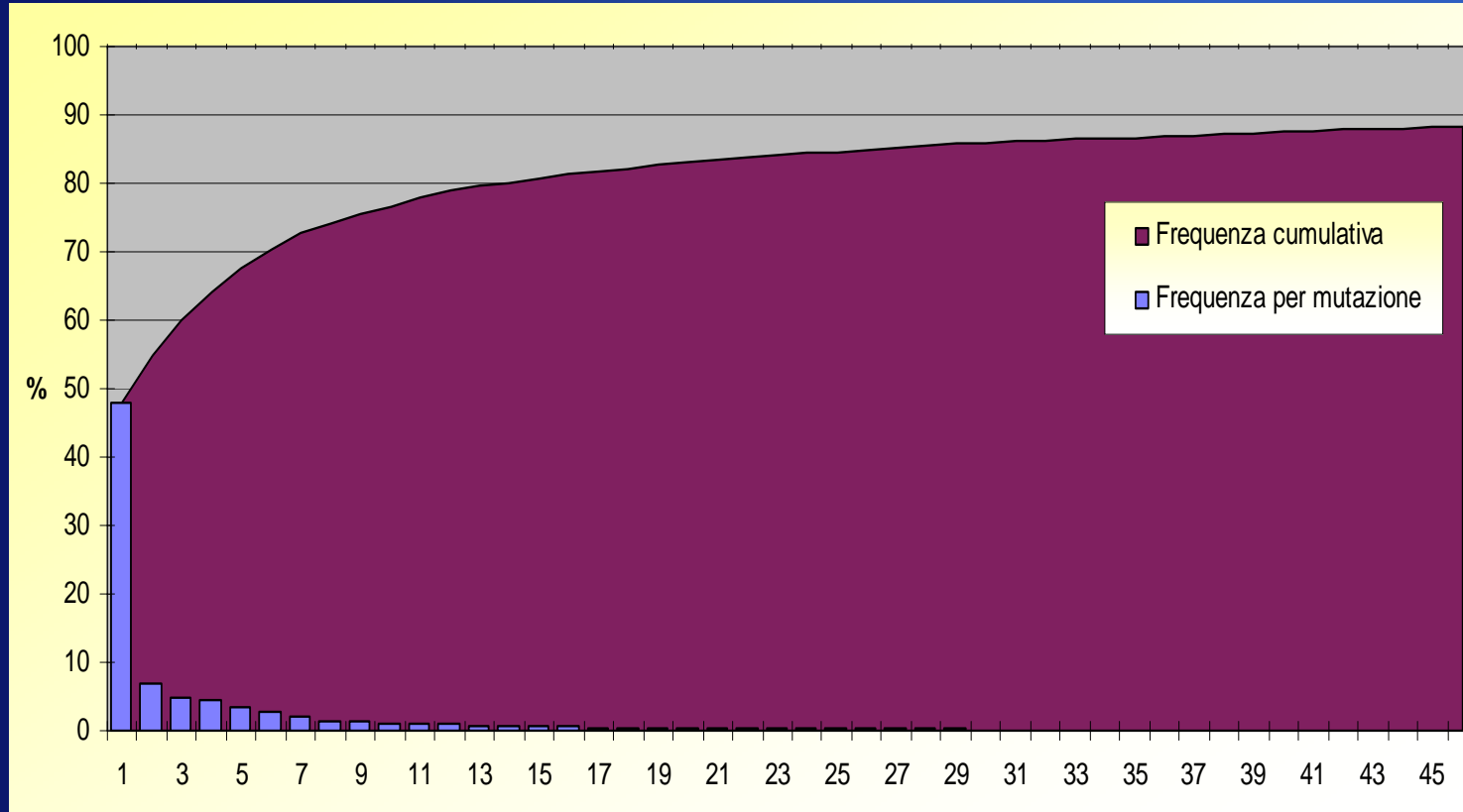
$\chi^2 p < 0,001$

$\chi^2 p < 0,001$



Frequenza > 1% (purple circles)
 Frequenza 1% - 0,5% (orange circles)

Frequenza per mutazione e cumulativa



Il pattern delle mutazioni classiche del CFTR è diverso nelle popolazioni tipiche e atipiche

La sensibilità allelica del test genetico per le mutazioni classiche del CFTR è diversa nelle forme tipiche e atipiche

Rischio residuo di concepire un figlio affetto da Fibrosi Cistica
dopo l'esecuzione di un test genetico con
sensibilità diagnostica = detection rate = 88%

Coppia 1

$\Delta F508/+$ $N1303K/+$

$\Delta F508/N1303K$

1 : 4

25%

alto rischio

Coppia 2

$\Delta F508/+$ $+/+$

$\Delta F508/\text{mut} (?)$

1 : 872

0,11 %

rischio intermedio

Coppia 3

$+/+$ $+/+$

$\text{mut} (?) / \text{mut} (?)$

1 : 190096

0,00053 %

basso rischio

mut (?) non compresa nel pannello indagato

diagnostico

Forme tipiche:
a completamento

Forme atipiche:
Indispensabile

Ricerca del portatore

Ricerca mutazionale

prognostico

Genotipo -> Fenotipo

terapeutico

Farmacogenomica

Terapia genica per ricombinazione omologa

