



**Fondazione per la Ricerca
sulla Fibrosi Cistica - ETS**
fibrosicisticaricerca.it

AREA 1

**Terapie e approcci innovativi per correggere
il difetto di base, genetica**



Progetto FFC#4/2021

**Stress ossidativo e autofagia in fibrosi cistica: nuovi
approcci biochimici e di individuazione di farmaci**



Chi ha condotto la ricerca:

Responsabile: Giorgio Cozza
(Dipartimento di Medicina Molecolare,
Università di Padova)



Partner: Federica Rossin

(Dipartimento di Biologia, Università Tor
Vergata di Roma)



Ricercatori coinvolti: 13



Qual è la durata dello studio: 2 anni

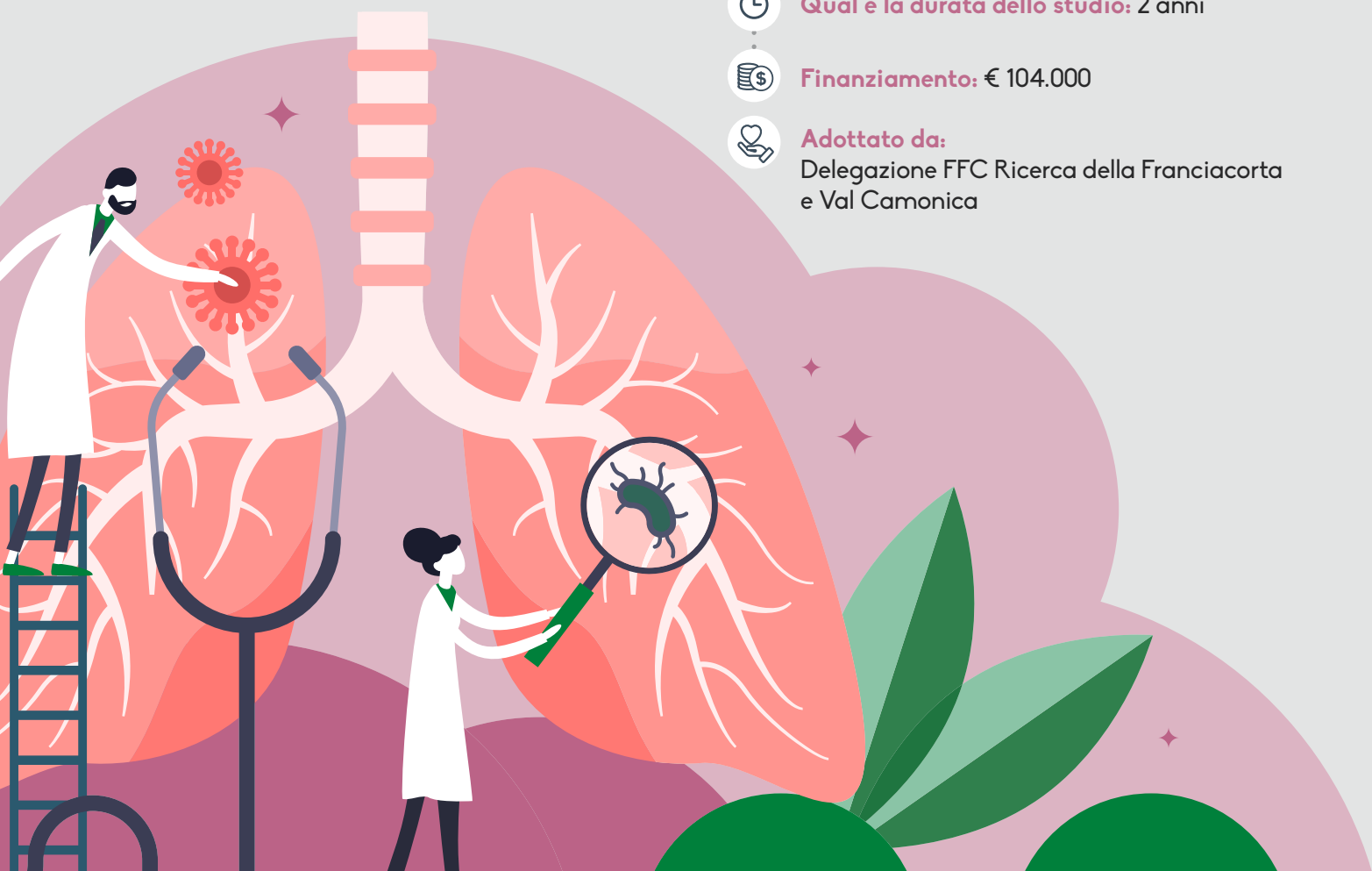


Finanziamento: € 104.000



Adottato da:

Delegazione FFC Ricerca della Franciacorta
e Val Camonica





Perché è importante

In fibrosi cistica (FC) esiste una terapia approvata per le persone portatrici di almeno una mutazione F508del che consiste nella combinazione di due correttori e un potenziatore. Molte altre mutazioni di CFTR sono orfane di una terapia efficace ed è urgente la ricerca di terapie alternative o di supporto agli attuali farmaci clinici. L'approccio proposto dai ricercatori in questo progetto è basato non sull'attacco diretto alla proteina mutata ma sullo studio dello squilibrio ossidativo in FC e il suo ripristino a livelli fisiologici per recuperare l'attività di CFTR. In particolare sono stati presi in considerazione il fenomeno della perossidazione lipidica, che tramite danni alle membrane cellulari può comportare sia malfunzionamenti delle proteine di membrana, come CFTR, sia infiammazione.



Che cosa hanno usato i ricercatori

Sono state usate analisi computazionali, come il *virtual screening* e la ricerca farmacoforica, per individuare potenziali molecole in grado di influenzare la maturazione della proteina CFTR e stimolarne l'attività.



Che cosa hanno fatto i ricercatori

Sono stati condotti studi biochimici e cellulari per indagare i meccanismi d'azione delle molecole individuate dalle analisi computazionali. È stata poi valutata la funzionalità del canale CFTR con F508del per verificarne l'efficacia e l'impatto.

Infine, sono state studiate proteine cellulari coinvolte nel sistema antiossidante della cellula come nuovi possibili bersagli in FC.



Che cosa hanno ottenuto

Si è dimostrato che modelli cellulari con mutazione F508del presentano un aumentato livello di danno ai lipidi causato dai radicali liberi e una diminuita protezione antiossidante. Inoltre esistono molecole che, all'interno della cellula, hanno un ruolo cruciale nella risposta allo stress ossidativo: tali molecole sono in grado di migliorare l'efficienza degli attuali correttori di CFTR nel ripristinare l'attività del canale.



Che cosa succederà ora

La ricerca verrà estesa a diverse mutazioni del canale CFTR per chiarire eventuali comportamenti simili o divergenti. Il pannello di molecole attive verrà ampliato e testato su diversi modelli FC. Lo scopo finale è poter suggerire nuovi interventi terapeutici indipendenti dal tipo di mutazione di CFTR.

Per saperne di più



Obiettivi

Selezione e test di molecole in grado di ripristinare la funzionalità di CFTR agendo sul bilancio ossidativo e sui parametri dell'autofagia in modelli FC

Questo progetto, estensione del FFC#4/2019, ha l'obiettivo di sviluppare nuove molecole o combinazioni di esse in grado di ripristinare la funzione di CFTR. I ricercatori, grazie ai risultati dei progetti precedenti, hanno osservato che in modelli di fibrosi cistica (FC) lo stress ossidativo è strettamente legato a difetti nell'autofagia, che è un importante processo cellulare deputato alla rimozione degli organelli cellulari danneggiati.

I ricercatori hanno identificato una serie di molecole in grado di ripristinare la funzione di CFTR bilanciando lo stato pro-ossidativo in modelli FC. Grazie anche ad approcci computazionali come il *virtual screening* e la ricerca farmacoforica, i ricercatori selezioneranno molecole e ne valideranno l'efficacia in modelli sperimentali sia cellulari, come cellule epiteliali nasali primarie da donatori F508del, N1303K, G85E e R1066C, che *in vivo* in modelli di topi transgenici.



Risultati

Molecole che riducono lo stress ossidativo in modelli FC con mutazione F508del contribuiscono al ripristino dell'attività di CFTR mediato dai correttori

In fibrosi cistica (FC) esiste una terapia approvata per le persone portatrici di almeno una mutazione F508del che consiste nella combinazione di due correttori e un potenziatore. Molte altre mutazioni di CFTR sono orfane di una terapia efficace ed è urgente la ricerca di terapie alternative o di supporto agli attuali farmaci clinici. L'approccio proposto dai ricercatori in questo progetto è basato non sull'attacco diretto alla proteina mutata ma sullo studio dello squilibrio ossidativo in FC e il suo ripristino a livelli fisiologici per recuperare l'attività di CFTR. In particolare sono stati presi in considerazione il fenomeno della perossidazione lipidica, che tramite danni alle membrane cellulari può comportare sia malfunzionamenti delle proteine di membrana (come CFTR), sia infiammazione.

Sono stati condotti studi biochimici e cellulari per indagare i meccanismi d'azione delle molecole individuate dalle analisi computazionali. È stata poi valutata la funzionalità del canale CFTR con F508del per verificarne l'efficacia e l'impatto.

Infine, sono state studiate proteine cellulari coinvolte nel sistema antiossidante della cellula come nuovi possibili bersagli in FC.

Si è dimostrato che modelli cellulari con mutazione F508del presentano un aumentato livello di danno ai lipidi causato dai radicali liberi e una diminuita protezione antiossidante. Inoltre, esistono molecole che, all'interno della cellula, hanno un ruolo cruciale nella risposta allo stress ossidativo: tali molecole sono in grado di migliorare l'efficienza degli attuali correttori di CFTR nel ripristinare l'attività del canale.

La ricerca verrà estesa a diverse mutazioni del canale CFTR per chiarire eventuali comportamenti simili o divergenze. Il pannello di molecole attive verrà ampliato e testato su diversi modelli FC. Lo scopo finale è poter suggerire nuovi interventi terapeutici indipendenti dal tipo di mutazione di CFTR.

Publicazioni



Cysteamine/Cystamine Exert Anti-*Mycobacterium abscessus* Activity Alone or in Combination with Amikacin

International journal of molecular sciences, 2023



International Journal of
Molecular Sciences



Article

Cysteamine/Cystamine Exert Anti-*Mycobacterium abscessus* Activity Alone or in Combination with Amikacin

Ivana Palucci ^{1,2}, Alessandro Salustri ², Flavio De Maio ^{1,2}, Maria del Carmen Pereyra Boza ¹, Francesco Paglione ¹, Michela Sali ^{1,2}, Luca Occhigrossi ³, Manuela D'Eletto ³, Federica Rossin ³, Delia Goletti ⁴, Maurizio Sanguinetti ^{1,2}, Mauro Piacentini ^{3,4} and Giovanni Delogu ^{2,5,*}

¹ Department of Laboratory Sciences and Infectious Diseases, Fondazione Policlinico Universitario "A. Gemelli", 00168 Rome, Italy

² Dipartimento di Scienze Biotecnologiche di Base, Cliniche Intensivologiche e Perioperatorie—Sezione di Microbiologia, Università Cattolica del Sacro Cuore, 00168 Rome, Italy

³ Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Roma "Tor Vergata", 00173 Rome, Italy

⁴ Department of Epidemiology and Preclinical Research, National Institute for Infectious Diseases Translational Research Unit, IRCCS 'Lazzaro Spallanzani', 00149 Rome, Italy

⁵ Mater Olbia Hospital, 07026 Olbia, Italy

* Correspondence: giovanni.delogu@unicatt.it

Author Contributions: Conceptualization, I.P., M.S. (Michela Sali) and G.D.; methodology, I.P., A.S., F.D.M., M.d.C.P.B., F.P. and L.O.; software, A.S.; validation, I.P. and G.D.; formal analysis, I.P. and D.G.; investigation, A.S.; resources, M.P.; data curation, I.P. and M.d.C.P.B.; writing—original draft, I.P., F.D.M., L.O., M.D., F.R., D.G., M.S. (Maurizio Sanguinetti), M.P. and G.D.; visualization, M.S. (Michela Sali); supervision, I.P., M.S. (Michela Sali) and G.D.; project administration, G.D.; funding acquisition, I.P. and G.D. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This work was supported by funding received from the RICERCA FINALIZZATA 2018 N. "GR-2018-12367178" from Italian Ministry of Health. The authors also acknowledge the support of grants from the Fondazione Fibrosi Cistica (FFC#10/2018 to M.P.; FFC#4/2021 to F.R.) and the National Institute for Infectious Diseases IRCCS 'Lazzaro Spallanzani' (5XMILLE 2019). The study was partially supported by funding from the Italian Ministry of Health, Ricerca Corrente, Linea 4.

Institutional Review Board Statement: The Institutional Review Board of the Fondazione Policlinico A. Gemelli- Università Cattolica del Sacro Cuore approved this study.

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from each study subject according to the guidelines approved under this protocol (ID:3715/21).

Data Availability Statement: The original contributions presented in the study are included in the article/Supplementary Materials. Further inquiries can be directed to the corresponding author.

Acknowledgments: We would like to acknowledge the excellent technical support of Nadia Mandarino and Angela Careddu.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

Rendiconto economico



AREA 1

Terapie e approcci innovativi per correggere il difetto di base, genetica

Progetto FFC#4/2021

Stress ossidativo e autofagia in fibrosi cistica: nuovi approcci biochimici e di individuazione di farmaci



Responsabile:

Giorgio Cozza

(Dipartimento di Medicina Molecolare, Università di Padova)



Periodo:

01/09/2021-31/08/2023



Grant assegnato:

€ 104.000



Usato per:

- Materiale di consumo € 77.387
- Consulenze scientifiche € 5.000
- Borse di studio € 20.873
- Servizi scientifici € 447
- Spedizioni € 89
- Equipment € 118

€ 103.914



Saldo (usato per altri progetti):

€ 86