



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

AREA 4

Terapie dell'infiammazione polmonare



Progetto FFC#19/2021

Targeting combinato della sfingosina-1-fosfoliasi dell'ospite e del patogeno come strategia antimicrobica nella fibrosi cistica



Chi ha condotto la ricerca:

Responsabile: **Barbara Cellini**
(Università degli Studi di Perugia,
Dipartimento di Medicina Sperimentale)



Ricercatori coinvolti: 10



Qual è la durata dello studio: 1 anno

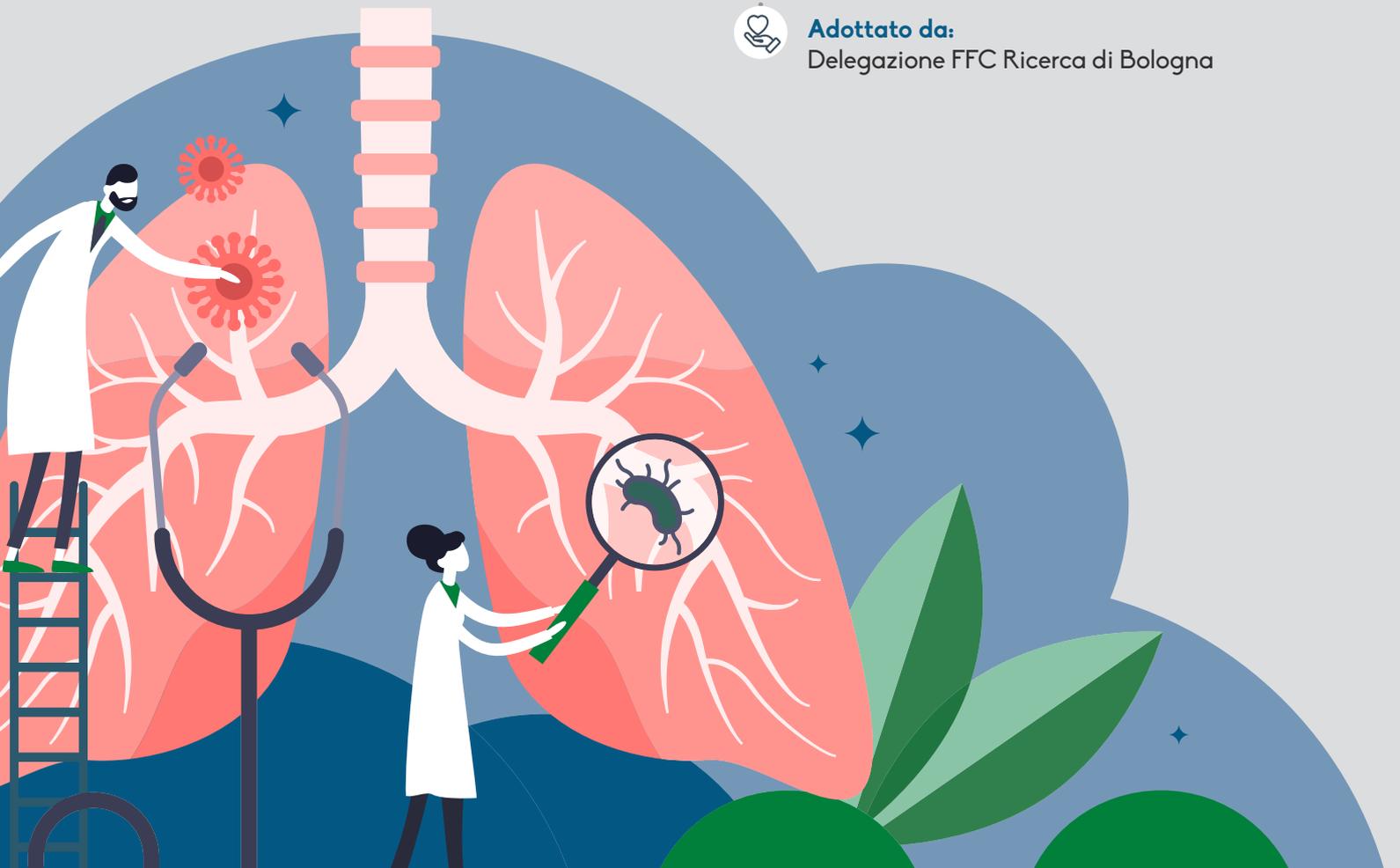


Finanziamento: € 69.750



Adottato da:

Delegazione FFC Ricerca di Bologna





Perché è importante

Le persone con fibrosi cistica (FC) presentano diverse alterazioni nel metabolismo di una classe specifica di lipidi (grassi), chiamati sfingolipidi. Tali alterazioni favoriscono l'infiammazione e aumentano la suscettibilità alle infezioni polmonari.

Aspergillus fumigatus è un fungo che può avere effetti gravi nelle persone con fibrosi cistica (FC). La sfingosina-1-fosfato liasi (SPL) è un enzima coinvolto nel metabolismo dei lipidi ed è presente sia nell'uomo sia in *A. fumigatus*. Ciò rende SPL un interessante bersaglio farmacologico con attività antinfiammatoria e antimicrobica nella FC.

L'obiettivo del progetto è identificare alcuni inibitori dell'enzima SPL.



Che cosa hanno usato i ricercatori

Grazie alla metodologia di studio basata su indagini computazionali messa a punto nel corso del progetto pilota [FFC#16/2020](#), tra oltre 200.000 molecole analizzate sono stati identificati 50 potenziali inibitori di SPL attivi sia nell'uomo sia nel fungo.



Che cosa hanno fatto i ricercatori

I ricercatori hanno usato le forme di SPL umano e fungino individuate per ricavare la struttura tridimensionale di SPL, confermando e ottimizzando l'analisi computazionale, e per verificare l'attività inibitoria dei composti al fine di selezionare quelli più promettenti.

Inoltre, con l'obiettivo di testare eventuali nuovi composti nel modello animale, è stata eseguita un'analisi della composizione dei lipidi presenti nel polmone di topi con FC, per valutare eventuali effetti "fuori bersaglio" che potrebbero condizionare la sicurezza degli inibitori.



Che cosa hanno ottenuto

Sono stati selezionati 4 composti, attivi sia nell'uomo sia nel fungo, potenzialmente in grado di svolgere la duplice attività antinfiammatoria e antimicrobica nella FC.



Che cosa succederà ora

Il progetto ha permesso di confermare la potenziale efficacia degli inibitori di SPL umano e fungino nella FC e di identificare le molecole più promettenti da avviare alla successiva ottimizzazione per lo sviluppo di farmaci. La scarsa solubilità dei composti ne ha ostacolato l'analisi nei modelli *in vitro*: per questo è attualmente in corso una procedura per ottenere una formulazione in polvere da somministrare direttamente al modello di topo con FC. L'obiettivo è verificare la sicurezza e l'efficacia di queste molecole mediante studi clinici mirati.

Per saperne di più



Obiettivi

Identificare inibitori dell'enzima sfingosina-1-fosfato liasi (SPL) per migliorare l'infiammazione polmonare e contestualmente compromettere la sopravvivenza di *Aspergillus fumigatus*

Le persone con fibrosi cistica (FC) presentano numerosi difetti nel metabolismo di una classe specifica di lipidi, chiamati sfingolipidi, e uno degli enzimi coinvolti in questo metabolismo, la sfingosina-1-fosfato liasi (SPL), rappresenta un interessante bersaglio farmacologico. Infatti, bloccando la sua attività migliora l'infiammazione polmonare in un modello murino di FC e, allo stesso tempo, si ha una potente attività antimicrobica. L'obiettivo del progetto, estensione del pilota FFC#16/2020, è quello di bloccare la SPL sia nell'ospite sia nel patogeno, quale *Aspergillus fumigatus*, ottenendo così due effetti opposti, ma entrambi vantaggiosi. Da un lato, infatti, la risposta immunitaria migliora; dall'altro lato, la sopravvivenza di *A. fumigatus* è compromessa. Il gruppo di ricerca si prefigge di identificare potenziali inibitori della SPL dell'ospite e del fungo, i quali verranno testati su proteine purificate e modelli *in vitro* e *in vivo*. Gli inibitori più promettenti verranno poi preparati in modo da consentire una somministrazione diretta nei polmoni, al fine di limitarne gli effetti collaterali.



Risultati

Confermata l'efficacia degli inibitori di SPL umano e fungino nella FC. Identificati i quattro composti più promettenti per lo sviluppo di farmaci

Grazie a un approccio multidisciplinare che ha interessato esperti di analisi computazionali, di studio delle proteine e dei lipidi, e di modelli sperimentali di fibrosi cistica (FC), i ricercatori hanno identificato nuovi inibitori dell'enzima sfingosina-1-fosfato liasi (SPL), nella forma sia umana sia fungina. Questi inibitori sono potenzialmente in grado di svolgere, nelle persone con FC, un'attività sia anti-infiammatoria sia antimicrobica.

Nel corso del progetto pilota FFC#16/2020, i ricercatori avevano messo a punto la metodologia che è stata poi applicata al presente progetto. In particolare, mediante analisi computazionali sono stati identificati 50 potenziali inibitori di SPL a partire dallo screening di più 200.000 molecole.

Inoltre, i ricercatori hanno purificato le forme umana e fungina di SPL con un duplice obiettivo:

- i) ottenere la struttura tridimensionale delle due proteine per confermare e ottimizzare i dati ricavati dall'analisi computazionale;
- ii) testare l'attività inibitoria dei composti identificati dall'analisi computazionale per selezionare solo i composti più promettenti.

Grazie a queste analisi sono stati selezionati 4 composti. Tuttavia, la loro scarsa solubilità ha ostacolato gli studi nei modelli *in vitro*; per aggirare questo problema, i ricercatori stanno attualmente mettendo a punto una procedura per ottenere una formulazione in polvere da somministrare direttamente al modello di topo con FC.

Accanto a questo filone principale, è stata eseguita un'analisi della composizione lipidica del polmone di topi con FC: queste indagini sono un prerequisito fondamentale per valutare se gli ini-

Per saperne di più



bitori di SPL possono agire sulla componente lipidica dei polmoni e causare effetti collaterali che ne potrebbero condizionare la sicurezza.

In conclusione, questo progetto ha permesso non solo di confermare la potenziale efficacia di inibitori di SPL umano e fungino nella FC, ma anche di identificare i candidati più promettenti da avviare alla successiva ottimizzazione per lo sviluppo di farmaci. Ulteriori studi di sicurezza ed efficacia, con i modelli già sviluppati, saranno necessari per il successivo approccio traslazionale, con cui i ricercatori sperano di trasferire questi inibitori alla pratica clinica.

Abstract presentati a congressi scientifici



- **Cellini Barbara, Dual targeting of host and fungal sphingosine-1-phosphate lyase as antifungal strategy in cystic fibrosis**
Proteine 2022 Pisa 18-20 maggio 2022
- **Costantini Claudio, Dual targeting of host and fungal sphingosine-1-phosphate lyase as antifungal strategy in cystic fibrosis**
North American Cystic Fibrosis Conference, November 2 - 5, 2021, Fully Virtual
- **Pampalone Gioena, Dual inhibitors of human and fungal sphingosine 1-phosphate lyase as antimicrobial strategy in cystic fibrosis**
25th IUBMB 46th FEBS 15th PABMB- The Biochemistry Global Summit Lisbon, 08-15 luglio 2022

Rendiconto economico



AREA 4

Terapie dell'inflammatione polmonare

Progetto FFC#19/2021

Targeting combinato della sfingosina-1-fosfato-liasi dell'ospite e del patogeno come strategia antimicrobica nella fibrosi cistica



Responsabile:

Barbara Cellini

(Università degli Studi di Perugia, Dipartimento di Medicina Sperimentale)



Periodo:

01/09/2021-31/08/2022



Grant assegnato:

€ 70.000



Usato per:

- Materiale di consumo € 28.714,06
- Spese viaggio/convegni € 617,40
- Borse di studio € 32.207,00
- Servizi scientifici € 1.570,00
- Consulenze € 6.891,54

.....
€ 70.000



Saldo (usato per altri progetti):

€ 0