



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



Progetto FFC#8/2019

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

Peptidi antimicrobici da pelle di anfibio per il trattamento della patologia polmonare nella fibrosi cistica: caratterizzazione funzionale *in vitro* e *in vivo*



Chi ha condotto la ricerca:

Responsabile:

Maria Luisa Mangoni

Università La Sapienza Roma, Dip. di Scienze Biochimiche, Lab. di Peptidi Bioattivi



Ricercatori coinvolti: 9



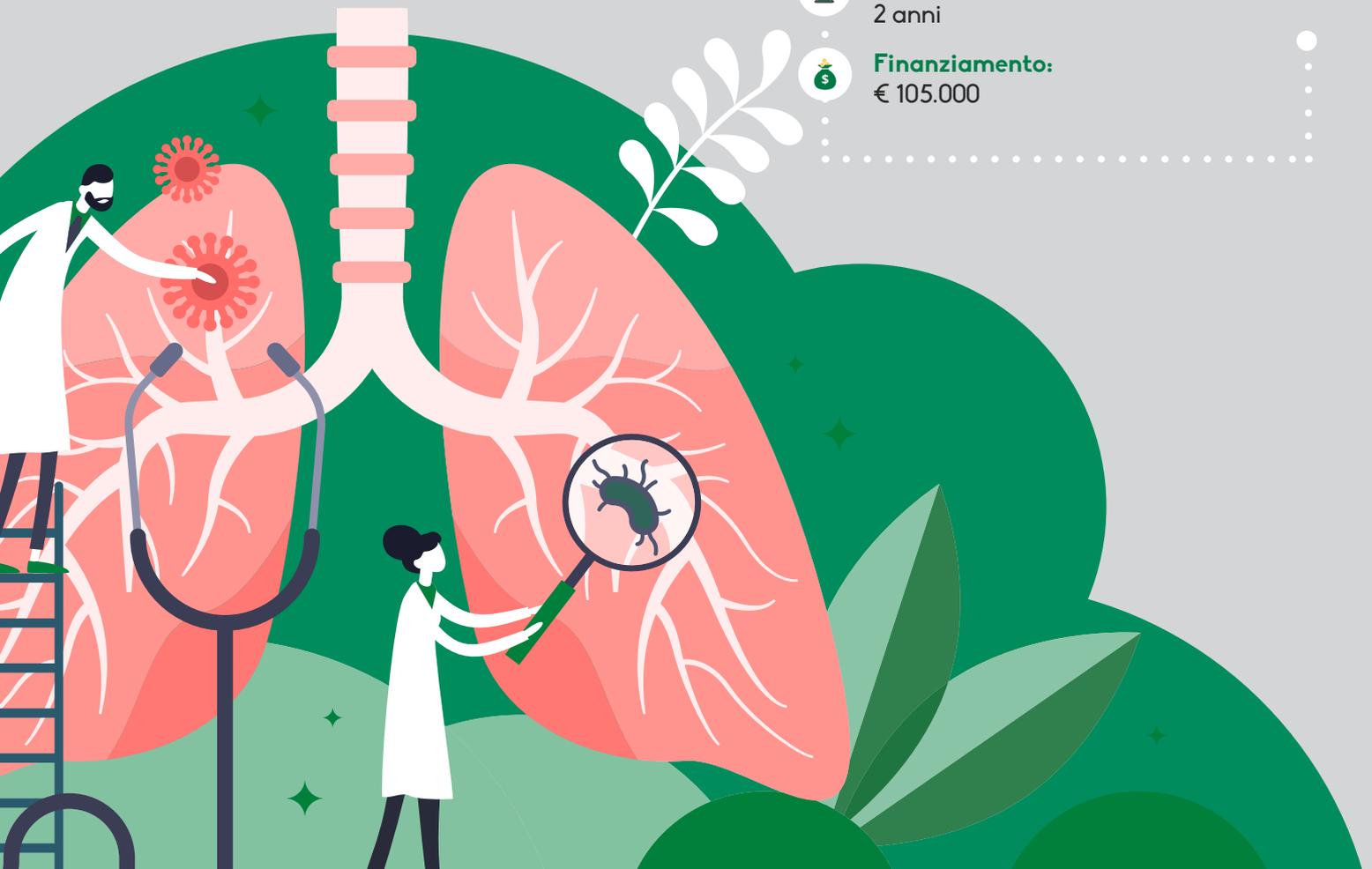
Qual è la durata dello studio:

2 anni



Finanziamento:

€ 105.000





Perché è importante

Pseudomonas aeruginosa è un batterio che provoca frequentemente infezioni broncopolmonari croniche in persone con fibrosi cistica. A causa della sua resistenza agli antibiotici, è spesso difficile da eradicare. Il progetto studia nuovi composti che hanno proprietà antimicrobiche e sono capaci di aumentare la funzionalità del canale CFTR mutato.



Che cosa hanno usato i ricercatori

Grazie a studi precedenti, i ricercatori hanno individuato due peptidi antimicrobici derivati dal composto esculentina isolato da pelle di anfibio: uno si chiama Esc(1-21) e uno è suo analogo. Entrambi sono attivi su *Pseudomonas aeruginosa* e sembrano limitare lo sviluppo di farmacoresistenza. Per veicolare efficacemente questi peptidi nelle cellule, i ricercatori hanno messo a punto dei sistemi di trasporto, a base di nanoparticelle.



Che cosa hanno fatto i ricercatori

È stata testata la capacità antimicrobica dei peptidi con modelli sperimentali sia *in vitro* che *in vivo* e la loro capacità di ripristinare la funzione del canale CFTR con la mutazione F508del. Inoltre, è stato valutato il profilo di sicurezza polmonare delle nanoparticelle e la risposta dell'ospite in seguito alla loro somministrazione.



Che cosa hanno ottenuto

Entrambi i peptidi Esc sono attivi sia come antimicrobici sia come modulatori del canale CFTR. Inoltre, le nanoparticelle sviluppate per trasportare nell'organismo i peptidi antimicrobici non hanno mostrato effetti tossici nei modelli sperimentali usati.



Che cosa succederà ora

Sono necessari altri studi per approfondire l'attività dei peptidi antimicrobici prima che possano diventare farmaci. Grazie al brevetto depositato dai ricercatori, sarà possibile identificare dei partner industriali interessati allo sviluppo dei peptidi antimicrobici per facilitare la strada verso l'ottenimento di un possibile farmaco da usare in fibrosi cistica.

Per saperne di più



Obiettivi

Studio di peptidi antimicrobici derivati da pelle di anfibio e del loro possibile effetto benefico sulla permeabilità dell'epitelio bronchiale FC.

I ricercatori coinvolti in questo progetto hanno in precedenza identificato un peptide antimicrobico (AMP) da pelle di rana, l'Esc(1-21), attivo sul batterio *Pseudomonas aeruginosa* limitandone lo sviluppo di resistenza. È stato anche identificato un composto analogo a Esc(1-21) che ha mostrato una maggiore efficienza nello stimolare la migrazione di cellule bronchiali, processo importante per la guarigione in caso di danni cellulari come avviene in fibrosi cistica (FC). Inoltre, il composto ha mostrato attività di riduzione della carica batterica in modelli di topo con infezione polmonare da *P. aeruginosa*. Ora i ricercatori si propongono di indagare anche l'effetto di questi due peptidi sulla permeabilità dell'epitelio polmonare, ovvero sulla capacità della membrana delle cellule di essere attraversata da fluidi o elettroliti, processo limitato in FC dato il non corretto funzionamento del canale CFTR. Verrà usato un approccio multidisciplinare che combina metodi biochimici, di biologia cellulare e computazionali, nonché modelli animali (topo) per gli studi *in vivo*. Successivamente, verranno prodotte nanoparticelle polimeriche per la veicolazione e il rilascio controllato a livello polmonare degli AMP selezionati. Infine, saranno effettuati studi preclinici per determinare il profilo di sicurezza a livello polmonare e la risposta dell'ospite alla somministrazione delle nanoparticelle contenenti i peptidi sviluppati.



Risultati

Peptidi Esc aumentano l'attività di CFTR in linee cellulari F508del e attivano il canale mutato in cellule primarie bronchiali. Le nanoparticelle per veicolare i peptidi Esc non causano infiammazione nel modello *in vivo*.

Il gruppo di ricerca ha in precedenza identificato un peptide antimicrobico (AMP) dalla pelle di rana, Esc(1-21), che uccide il batterio *Pseudomonas aeruginosa* impedendo lo sviluppo di resistenza. Inoltre, un suo analogo contenente due D-amminoacidi è risultato più efficiente nel ridurre la carica batterica in modelli di topo con infezione polmonare da *P. aeruginosa*, soprattutto se incorporato in nanoparticelle polimeriche (NP). Questo progetto ha usato un approccio multidisciplinare per esplorare l'effetto dei peptidi Esc sulle correnti ioniche mediate dalla proteina CFTR con la mutazione F508del; ha inoltre valutato il profilo di sicurezza polmonare delle NP e la risposta dell'ospite in seguito a loro somministrazione. I ricercatori hanno dimostrato che entrambi i peptidi Esc sono in grado (i) di aumentare l'attività di CFTR in linee cellulari che esprimono la proteina con la mutazione F508del in seguito a una diretta interazione con il canale e (ii) di indurre un significativo aumento di corrente di ioni cloruro in cellule bronchiali primarie omozigoti per la stessa mutazione, attivando il canale mutato. Questo effetto è paragonabile a quello del potenziatore genisteina e non è stato descritto per nessun altro AMP. Inoltre, i ricercatori riportano che i peptidi Esc e le NP di acido poli (lattico-co-glicolico) non causano alcun effetto infiammatorio nel polmone di topi sani né la variazione dell'espressione di geni dell'epitelio polmonare. A differenza degli attuali modulatori CFTR, i peptidi Esc potrebbero conferire particolare beneficio combinando la loro capacità di debellare le infezioni polmonari e di promuovere la guarigione di lesioni delle vie aeree con la capacità di migliorare l'attività di CFTR con difetto di conduttanza, ovvero il difetto della membrana delle cellule FC di essere attraversata da fluidi o elettroliti. Tutto ciò potrebbe aprire la strada a un nuovo approccio farmacologico per il trattamento della patologia polmonare della fibrosi cistica.

Publicazioni



Esc peptides as novel potentiators of defective cystic fibrosis transmembrane conductance regulator: an unprecedented property of antimicrobial peptides, *Cellular and molecular life sciences: CMLS*, Volume 79, Dicembre 2021

Cellular and Molecular Life Sciences (2022) 79:67
<https://doi.org/10.1007/s00018-021-04030-2>

Cellular and Molecular Life Sciences

ORIGINAL ARTICLE



Esc peptides as novel potentiators of defective cystic fibrosis transmembrane conductance regulator: an unprecedented property of antimicrobial peptides

Loretta Ferrera¹ · Floriana Cappiello² · Maria Rosa Loffredo² · Elena Puglisi² · Bruno Casciaro³ · Bruno Botta⁴ · Luis J. V. Galietta^{5,6} · Mattia Mori⁷ · Maria Luisa Mangoni²

Received: 25 August 2021 / Revised: 4 November 2021 / Accepted: 9 November 2021 / Published online: 31 December 2021
© The Author(s) 2021

Acknowledgements We are very grateful to Dr. Oscar Moran (Biophysics Institute, National Research Council (CNR), 16149 Genoa, Italy) for critical reading of the manuscript. The authors also acknowledge the “Servizio Colture Primarie” of the Italian Cystic Fibrosis Research Foundation for providing CF primary cells. Dr. Floriana Cappiello and Dr. Maria Rosa Loffredo are Italian Cystic Fibrosis Foundation fellowship holders (Project FFC #8/ 2019).

Author contributions LF, LG and MLM designed the experimental work and wrote the manuscript. LF, FC, MRL and EP performed the experiments and analyzed the data; BC prepared and characterized the peptides solution used for the study. MM performed the computational studies. BB partially supported the computational work and reviewed the manuscript.

Funding Fondazione Italiana per la Ricerca sulla Fibrosi Cistica (Project FFC 8/2019) Delegazione FFC di Imola e Romagna con Gruppo di sostegno FFC di Faenza (MLM), Sapienza University of Rome, Progetto Ricerca N. RM11916B6A28725C (MLM).

Publicazioni



Antipseudomonal and Immunomodulatory Properties of Esc Peptides: Promising Features for Treatment of Chronic Infectious Diseases and Inflammation, *International Journal of Molecular Sciences*, Volume 22, Gennaio 2021



International Journal of
Molecular Sciences



Article

Antipseudomonal and Immunomodulatory Properties of Esc Peptides: Promising Features for Treatment of Chronic Infectious Diseases and Inflammation

Floriana Cappiello ^{1,*}, Veronica Carnicelli ², Bruno Casciaro ³ and Maria Luisa Mangoni ^{1,*}

¹ Laboratory Affiliated to Pasteur Italia-Fondazione Cenci Bolognetti, Department of Biochemical Sciences, Sapienza University of Rome, P. le Aldo Moro 5, 00185 Rome, Italy

² Department of Biotechnological and Applied Clinical Sciences, University of L'Aquila, 67100 L'Aquila, Italy; veronica.carnicelli@univaq.it

³ Center for Life Nano Science@Sapienza, Istituto Italiano di Tecnologia, Viale Regina Elena 291, 00161 Rome, Italy; bruno.casciaro@iit.it

* Correspondence: floriana.cappiello@uniroma1.it (F.C.); marialuisa.mangoni@uniroma1.it (M.L.M.); Tel.: +39-0649910838 (M.L.M.)

Funding: This research was funded by Sapienza University of Rome. This work was supported by grants from Sapienza University of Rome (RM11916B6A28725C to M.L.M.) and from the Italian Cystic Fibrosis Foundation (Project FFC8/2019 adopted by Delegazione FFC di Imola e Romagna con Gruppo di sostegno FFC di Faenza (to M.L.M.)).

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Data sharing is not applicable.

Acknowledgments: F.C. is grateful to the Italian Cystic Fibrosis Foundation for the contribution to her post-doctoral fellow (Project FFC 8/2019).

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



Pubblicazioni



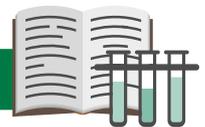
Inorganic Gold and Polymeric Poly(Lactide-co-glycolide) Nanoparticles as Novel Strategies to Ameliorate the Biological Properties of Antimicrobial Peptides, *Current protein & peptide science*, Volume 21, 2020

Abstract presentati a congressi scientifici



Immunomodulatory activities of ESC peptides in lung infection, *61° SIB Meeting Virtual Edition*, Settembre 2021

Brevetti



WO2021074025A1 - Use of esculentin and its derivatives for use in the treatment of cystic fibrosis

Rendiconto economico



Progetto FFC#8/2019

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

Peptidi antimicrobici da pelle di anfibio per il trattamento della patologia polmonare nella fibrosi cistica: caratterizzazione funzionale *in vitro* e *in vivo*



Periodo:
01/09/2019 – 30/11/2021 (tre mesi di proroga)



Responsabile:
Maria Luisa Mangoni
Università "La Sapienza", Dip. di Scienze Biochimiche, Lab. Peptidi Bioattivi, Roma



Grant assegnato: **€105.000**



Usato per:

- | | |
|------------------------------|---------|
| • Materiale di consumo | €16.176 |
| • Spese viaggio/convegni | €887 |
| • Borse di studio | €16.800 |
| • Servizi scientifici | €20.300 |
| • Pubblicazioni scientifiche | €4.789 |
| • Equipment | |

€101.728



Saldo (usato per altri progetti) €3.272