

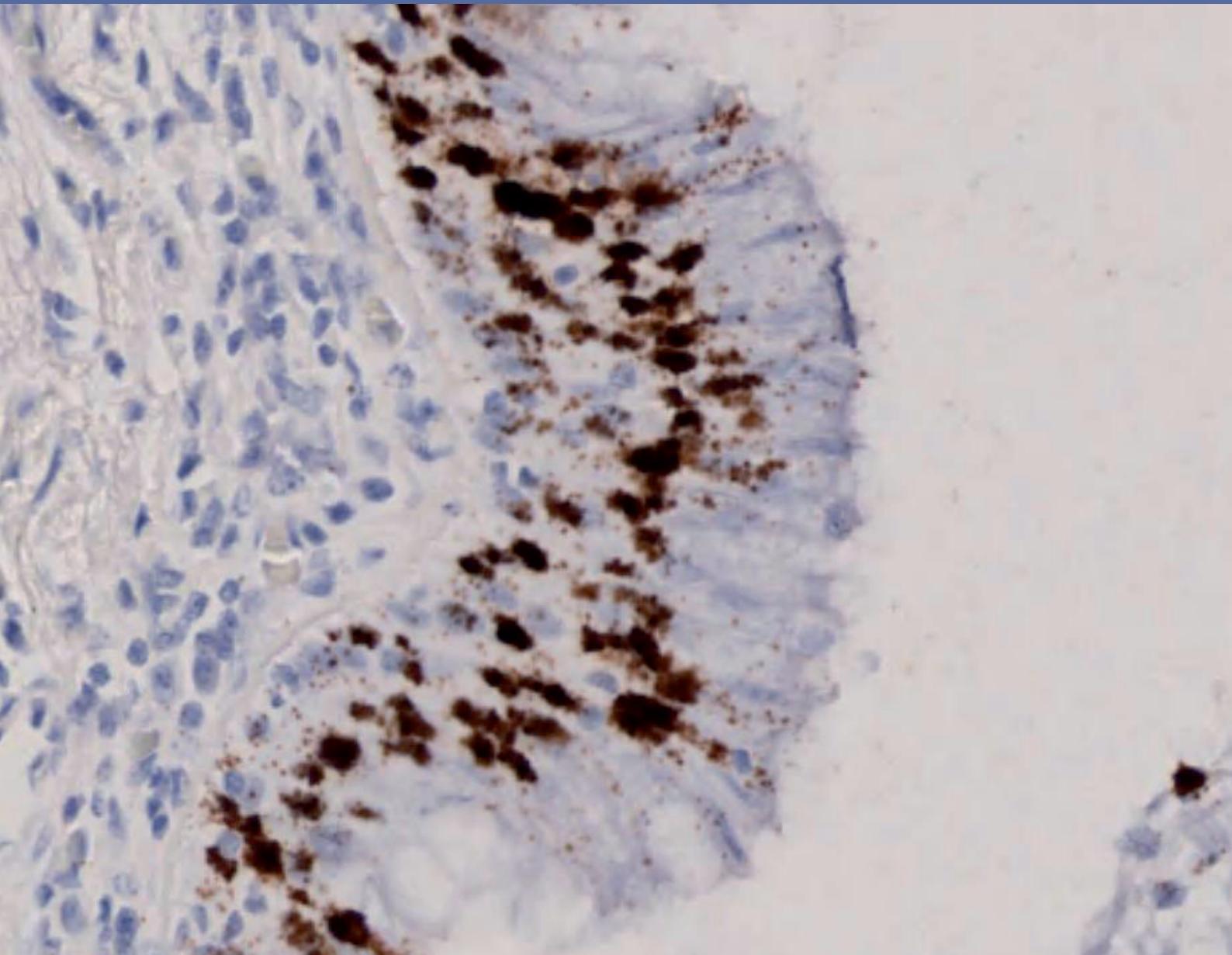


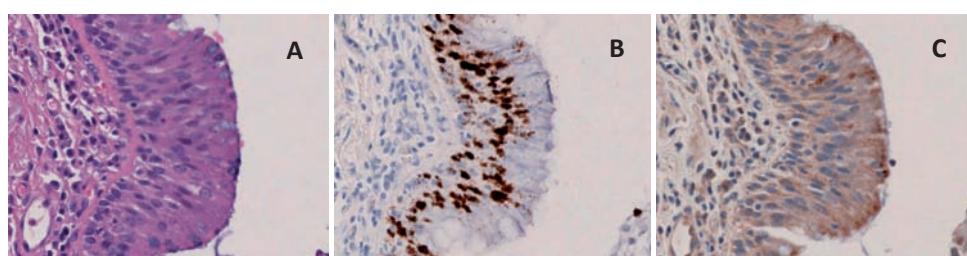
**Fondazione Ricerca
Fibrosi Cistica - Onlus**
italian cystic fibrosis research foundation

XIV CONVENTION D'AUTUNNO DEI RICERCATORI IN FIBROSI CISTICA

14th Convention of Investigators in Cystic Fibrosis

Garda (Verona), 24-26 November 2016





Cellule epiteliali ciliate di mucosa bronchiale da polmone espiantato a paziente affetto da fibrosi cistica (A, colorazione ematossilina-eosina) mostrano marcata espressione della interleuchina 8 (B, colorazione marrone di ibridazione in situ di IL-8mRNA) e del canale ionico TRPA1 (C, colorazione marrone di immunoistochimica).

Ciliated epithelial cells of bronchial mucosa, obtained from lung explant of a patient suffering from cystic fibrosis (A, hematoxylin-eosin staining), that clearly express interleukin 8 (B, brown staining from in situ hybridization of IL-8mRNA) and TRPA1 ion channel (C, Immunohistochemistry brown staining).

Lisa Provezza, Eliana Gilioli e Giulio Cabrini, Laboratorio di Patologia Molecolare, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona. Progetto FFC #17/2014, Prandini P et all, Am J Respir Cell Mol Biol 2016 Nov;55(5):645-656.

**14th CONVENTION OF FFC INVESTIGATORS
IN CYSTIC FIBROSIS**

**XIV Convention d'Autunno
dei Ricercatori in Fibrosi Cistica**

Poiano Hotel Resort
Garda-Verona

24-26 novembre 2016

Work progress of projects funded by FFC (2014-2016)

Presentazione dello stato di avanzamento dei progetti
finanziati dalla Fondazione Ricerca Fibrosi Cistica
(2014-2016)



**Fondazione Ricerca
Fibrosi Cistica - Onlus**
italian cystic fibrosis research foundation

Program at a glance

Thursday, November 24

- 09:00-10:50 *Registration and poster display*
10:50-11:00 *Opening remarks*
11:00-13:20 *Plenary session 1: Microbiology/Infection*
13:20-14:30 *Lunch*
14:30-16:30 *Plenary Session 2: CFTR Rescue 1*
16:40-17:00 *Coffee break*
17:10 -19:00 *Parallel Poster Session 1: Posters A. CFTR rescue
Posters B. Microbiology/Infection*
20.00-21.30 *Dinner*

Friday, November 25

- 08:30-10:30 *Plenary Session 3: CF Inflammation*
10:30-11:00 *Coffee break*
11:00-13:00 *Plenary Session 4: CFTR Rescue 2*
13:00-14:30 *Lunch*
14:30-16:30 *Plenary Session 5: Thinking about the future of CF research*
16:30-17:00 *Coffee break*
17:00-19:00 *Parallel Poster Session 2: Posters C. Targeting CFTR
Posters D. Inflammation
Posters E. Clinical issues*
20:15-23:00 *Evening party*

Saturday, November 26

- 08:30-10:30 *Plenary Session 6: Infection/Inflammation*
10:30-11:00 *Coffee break*
11:00-13:00 *Plenary Session 7: Clinical and around issues*
13:00-13:10 *Conclusive remarks*
13:10-13:30 *Poster detachment*

Index/Program

Thursday 24th

9:00-10:50 Registration and poster display

10:50-1:00 Opening remarks

11:00-13:20

Plenary session 1: MICROBIOLOGY / INFECTION

Chairs: Alessandra Bragonzi, Giovanni Taccetti

1. Bevvino A, Mengoni A, Taccetti G, Fiscarelli EV, De Alessandri A	9
Investigating the airway microbiome in cystic fibrosis patients with a severe decline in lung function: an opportunity for a personalized microbiome based therapy (FFC#14/2015, Completed)	
2. Bertoni G	10
Role of small RNA-based regulatory systems in cystic fibrosis airways infection by <i>Pseudomonas aeruginosa</i> : a new frontier in the identification of molecular targets for novel antibacterials (FFC#13/2015, Completed)	
3. Gemma S, Docquier JD	10
Development of metallo-enzyme inhibitors to overcome <i>Pseudomonas aeruginosa</i> antibiotic-resistance in cystic fibrosis patients (FFC#16/2015, Completed)	
4. Ghisotti DE	11
Phage Therapy against <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Infections in cystic fibrosis patients (FFC#17/2015, Completed)	
5. Landini P	12
Antimetabolite drugs as inhibitors of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> biofilm growth and virulence: potential chemotherapics and tools in target identification for new antimicrobials (FFC#18/2015, Completed)	
6. Mangoni ML	13
Development and preclinical testing of a novel antimicrobial peptide to treat <i>Pseudomonas aeruginosa</i> -induced lung infections (FFC#11/2014, Completed)	
7. Pacello F	14
Targeting extracellular protein disulphide isomerase to control <i>Burkholderia cenocepacia</i> lung infections (FFC#13/2014, Completed)	

13:20-14:30 Lunch

14:30-16:30

Plenary session 2: CFTR RESCUE 1

Chair: Oscar Moran

8. Duga S, Seia M, Orrenius C	15
The plant cytokine kinetin and its analogues as potential therapeutic agents to correct CFTR splicing defects (FFC#5/2015, In progress)	
9. Pagani F	16
An RNA based approach based on ExSpeU1 for correction of CFTR splicing defects: analysis of efficacy in primary bronchial cells (FFC#5/2014, Completed)	
10. Millo E, Cichero E	16
Novel aminoarylhiazole derivatives as correctors of the chloride transport defect in cystic fibrosis: computer assisted drug design, synthesis and biological evaluation (FFC#7/2015, Completed)	
11. Lentini L, Pibiri I	17
Identification and validation of novel molecules obtained by integrated computational and experimental approaches for the read-through of PTCs in CF cells (FFC#1/2014, Completed)	
12. Moran O	18
The molecular structure and the folding of the whole Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR): corrector sites (FFC#4/2014, Completed)	
13. Luini A	19
A systems biology approach to the correction of Cystic Fibrosis: from building a network of proteostasis regulatory pathways to combinatorial targeting (FFC#2/2014, Completed)	

16:30-17:00 Coffee break

17:00-19:00

Parallel poster session 1

Poster A: CFTR RESCUE

Chairs: Alberto Luini, Giuseppe Magazzù

14. Chilin A	20
New generation trimethylangelicin (TMA) analogues for selective modulation of defective CFTR or inflammation (FFC#1/2016, New)	

15. Cozza G, Tosco A	21
Alternative strategies for F508delCFTR repair: novel targets for drug discovery approach in cystic fibrosis (FFC#2/2016, New)	
16. Ghigo A	22
Development of a PI3K -derived peptide as a novel F508del-CFTR potentiator (FFC#4/2016, New)	
17. Leal T, Celi S, Thao NK	22
Implementation of a new imaged-controlled sweat test for in vivo quantification of CFTR function: value for diagnosis and efficacy of new therapies (FFC#5/2016, New)	
18. Luini A	23
Understanding the mode of action of regulatory pathways controlling F508del- CFTR proteostasis and developing drugs that rescue F508del-CFTR by targeting these pathways synergistically (FFC#6/2016, New)	
19. Melotti P	24
Human intestinal organoids for detecting CFTR rescue molecules in human plasma (FFC#7/2016, New)	
20. Moran O	25
Identification of the binding sites of CFTR correctors (FFC#8/2016, New)	
21. Salvi M	26
Modulation of protein kinases in the regulation of chaperone machinery leading F508delCFTR fate (FFC#10/2016, New)	

Poster B: MICROBIOLOGY / INFECTION

Chairs: Paolo Landini, Giovanni Taccetti

22. Lorè NI	27
Genetically diverse mice as innovative model for cystic fibrosis (FFC#11/2015, <i>In progress</i>)	
23. Tortoli E, Colombo C, Di Serio M	28
Establishment of single cell and animal model to investigate pathogenesis of infection by <i>Mycobacterium abscessus</i> complex members in cystic fibrosis patients (FFC#13/2016, New)	
24. Bertoni G	28
Role of small RNA-based regulatory systems in cystic fibrosis airways infection by <i>Pseudomonas aeruginosa</i> : a new frontier in the identification of molecular targets for novel antibacterials (FFC#14/2016, New)	
25. Bragonzi A, Corvol H	29
Cystic fibrosis modifier genes related to <i>Pseudomonas aeruginosa</i> lung disease (FFC#15/2016, New)	
26. Ghisotti DE	30
Phage therapy against <i>Pseudomonas aeruginosa</i> infections in cystic fibrosis patients (FFC#16/2016, New)	
27. Pini A, d'Angelo I	31
Development of inhalable particles for optimal delivery of a potent antimicrobial molecule in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> infected lungs (FFC#17/2016, New)	
28. Cirillo DM	31
Impact of anti- <i>Staphylococcus aureus</i> treatment on <i>Pseudomonas aeruginosa</i> -induced lung damage (FFC#15/2015, <i>In progress</i>)	
29. Riccardi G, Ungaro F	32
Inhalable formulations of new molecules effective against <i>Burkholderia cenocepacia</i> : from <i>in vitro</i> to <i>in vivo</i> applications (FFC#19/2015, <i>In progress</i>)	
30. Visca P, Peri F, Sorrentino R	33
Exploiting the potential of gallium for the treatment of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> pulmonary infection (FFC#21/2015, <i>In progress</i>)	

18:50-19:20 Meeting in front of the poster "Facilities" with the head of "CFaCore Service"

20:00-21:30 Dinner

Friday, November 25th

8:30-10:30

Plenary session 3: CF INFLAMMATION

Chairs: James Chmiel, Carla Colombo

31. Hirsh E, Laudanna C	34
Targeting PI3K scaffold function to activate airway CFTR, limit lung inflammation and promote bronchorelaxation in cystic fibrosis (FFC#23/2015, <i>Completed</i>)	
32. Cabrini G, Nassini R	35
TRPA1 channels as novel molecular targets for anti-inflammatory therapies in CF lung (FFC#17/2014, <i>Completed</i>)	
33. Romani L	36
Targeting pathogenic pathways leading to inflammatory Th17 responses in cystic fibrosis: from drug discovery to preclinical validation (FFC#22/2014, <i>Completed</i>)	
34. Romano M, Totani L, Marchisio M	37
Mechanisms and clinical implications of endothelial dysfunction in cystic fibrosis (FFC#23/2014, <i>Completed</i>)	
35. Pizzo E, Pedone EM	38
Identification and characterization of LPS-neutralizing human peptides: potential tools to control inflammation in cystic fibrosis lung disease (FFC#20/2014, <i>Completed</i>)	
36. Recchiuti A	39
Resolvin D1 for Targeting Chronic Lung Inflammation and Infection in Cystic Fibrosis (FFC#21/2014, <i>Completed</i>)	

10:30-11:00 Coffee break

11:00-13:00

Plenary session 4: CFTR RESCUE 2

Chairs: Christine Bear, Paolo Bernardi

37. Galietta LJV, Bandiera T	Task Force for Cystic Fibrosis (FFC/TFCF, <i>In progress</i>)	40
38. Venerando A, Villella VR	A kinase-directed approach to rescue functionality of F508del CFTR (FFC#7/2014, <i>Completed</i>)	40
39. Piacentini M, Maiuri L	Dissecting the role of TG2 in cystic fibrosis pathogenesis: identification of possible novel therapeutic targets (FFC#8/2015, <i>In progress</i>)	41
40. Tamanini A, Aureli M	Identification of molecular targets to reduce the side effect of gating potentiators on the F508delCFTR plasma membrane stability (FFC#9/2015, <i>In progress</i>)	42
41. Messina G	Evaluation of the biological and therapeutic properties of Mesoangioblasts- vessel associated progenitor cells- in the cell based Therapy of the Cystic Fibrosis disease (FFC#6/2015, <i>Completed</i>)	43
42. de Jonge H, Calderer S	Assessment and pharmacological correction of abnormalities in bicarbonate (HCO3-) and mucus transport in intestinal biopsies and organoids of CF patients (FFC#3/2015, <i>Completed</i>)	44

13:00-14:30 Lunch

14:30-16:30

Plenary session 5: THINKING ABOUT THE FUTURE OF CF RESEARCH

Chairs: Giorgio Berton, Luis Galietta, Giulio Cabrini

14:30-15:15		
James Chmiel	CF Inflammation: achievements and perspectives. Why so much research and so negligible clinical application?	46
15:15-15:35	Discussion	
15:35-16:20		
Christine Bear	CFTR function recovery: achievements and perspectives. Openings and possible pitfalls of the new strategies	45
16:20-16:40	Discussion	
16:40-17:10	Coffee break	

17:10-19:00

Parallel Poster session 2

Posters C: TARGETING CFTR

Chairs: Claudio Sorio, Valeria Raia

43. Atlante A	Relationship between mitochondria and F508del-CFTR in Cystic Fibrosis (FFC#1/2015, <i>In progress</i>)	45
44. Cavalli A, Pedemonte N	NRNF5/RMA1 ubiquitin ligase as a drug target for mutant CFTR rescue (FFC#2/2015, <i>In progress</i>)	46
45. Romani L	Anakinra in cystic fibrosis: from targeting pathogenic inflammation to correcting CFTR defect (FFC#9/2016, <i>New</i>)	47
46. Signorelli P	Myriocin potential as a phenotype-modifying therapeutical in cystic fibrosis (FFC#11/2016, <i>New</i>)	47
47. Zegarra-Moran O	Properties of airway mucus in cystic fibrosis: their modification by changes in the activity of CFTR and after application of bicarbonate (FFC#12/2016, <i>Continuation</i>)	48

Posters D: INFLAMMATION

Chairs: Mario Romano, Cesare Braggion

48. Gambari R, Corradini R	Microrna therapeutics in CF: targeting CFTR and inflammation networks (MICRORNA-CF) (FFC#3/2016, <i>New</i>)	49
49. Cigana C, Naggi A	Interfering with glycosaminoglycans during <i>Pseudomonas aeruginosa</i> chronic lung infection: pre-clinical exploitation of a novel therapeutic strategy for cystic fibrosis (FFC#18/2016, <i>New</i>)	50
50. Evangelista V	Phosphodiesterases type-4 (PDE4) inhibitors and 2-adrenergic agonists to reduce neutrophilic lung inflammation in cystic fibrosis. Preclinical studies and identification of biomarkers of efficacy (FFC#16/2013, <i>In progress</i>)	51
51. Recchietti A	Resolvin D1 for targeting chronic lung inflammation, infection, and damage in cystic fibrosis (FFC#19/2016, <i>New</i>)	52
52. Dechechchi MC, Aureli M	A systematic investigation of miglustat-derivative iminosugar clusters as possible anti-inflammatory agents for cystic fibrosis lung disease (FFC#22/2015, <i>In progress</i>)	52

53. Rimessi A	53
Mitochondrial quality control machinery a role in the <i>Pseudomonas aeruginosa</i> -triggered inflammatory response in cystic fibrosis (FFC#20/2015, <i>In progress</i>)	
54. Strazzabosco M	54
CFTR-defective biliary cells from human induced pluripotent-stem cells (iPSC) as a model to study the role of innate immunity in cystic fibrosis liver disease (FFC#24/2015, <i>In progress</i>)	

Posters E: CLINICAL ISSUES

Chair: Vincenzina Lucidi

55. Castellani C	55
Outcomes of spontaneous application of carrier screening for cystic fibrosis: follow-up of its effects on birth prevalence, neonatal screening and reproductive behaviour of carrier couples (FFC#26/2015, <i>In progress</i>)	
56. Padoan R	56
Cystic fibrosis and meconium ileus: a multicentric study on risk factors for adverse outcome in infancy (FFC#28/2015, <i>In progress</i>)	
57. Sorio C, Averna M	57
Testing CFTR repair in cystic fibrosis patients carrying nonsense and channel gating mutations (FFC#29/2015, <i>In progress</i>)	
58. Battezzati A, Colombo C, Lucidi V, Magazzù G, Mari A	58
Italian multicenter study of glucose tolerance defects in cystic fibrosis (FFC#20/2016, <i>New</i>)	
59. Bisogni S	59
The use of Virtual Reality in the reduction of pain and anxiety during venipuncture in children with cystic fibrosis: a randomized controlled trial (FFC#21/2016, <i>New</i>)	
60. Signoretto C	60
Environmental and human reservoirs of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> and other bacterial species colonizing the lower airways of cystic fibrosis patients (FFC#22/2016, <i>New</i>)	

18:50-19:20 Meeting in front of the poster "Facilities" with the head of "Primary Cultures Service"

20:15-23:00 Evening party

Saturday, November 26th

8:30-10:30

Plenary session 6: INFECTION / INFLAMMATION

Chairs: Gian Maria Rossolini, Natalia Cirilli

61. Bragonzi A, Iraqi F	61
Cystic fibrosis modifier genes related to <i>Pseudomonas aeruginosa</i> lung disease (FFC#9/2014, <i>Completed</i>)	
62. Maria M. Lleò	61
A CF, IL-8 transgenic mouse model for the <i>in vivo</i> , long-term monitoring of the anti-inflammatory role of metallo-protease inhibitors and antibiotics with mechanisms of action similar to that of azithromycin (FFC#10/2015, <i>Completed</i>)	
63. Berluti F	62
Anti-inflammatory and anti-bacterial activity of bovine lactoferrin administered by aerosol in airway infections of pre-clinical wt and CF mouse models (FFC#12/2015, <i>Completed</i>)	
64. Pinton P	63
Mitochondrial Ca ²⁺ -dependent inflammasome activation exacerbates the <i>P. aeruginosa</i> -driven inflammatory response (FFC#19/2014, <i>Completed</i>)	
65. Sonnino S	64
The role of Glucocerebrosidase GBA2 in cystic fibrosis lung inflammation: from molecular mechanism to therapeutic strategies (FFC#24/2014, <i>Completed</i>)	
66. Pilette C, De Rose V	65
Impaired secretory IgA and mucosal immunity in cystic fibrosis: contribution to lung pathology and impaired defence against bacterial infection, and role of CFTR-related epithelial changes in the regulation of the receptor-mediated IgA transcytosis (FFC#26/2014, <i>Completed</i>)	

10:30-11:00 Coffee break

11:00-13:00

Plenary session 7: CLINICAL AND AROUND ISSUES

Chairs: Roberto Buzzetti, Rita Padoan

67. Corti A	66
GSH inhalation therapies in CF: how useful, how safe? Set-up of a CF murine model for monitoring of inflammation <i>in vivo</i> and assessment of convenient alternatives (FFC#18/2014, <i>Completed</i>)	
68. Zaza G, Chilosì M	67
<i>In vitro</i> study of potential pro-fibrotic effect of Everolimus in different human airway cell lines. Searching for new biomarkers to optimize MTOR-inhibitor immunosuppressive treatment of cystic fibrosis patients undergoing lung transplantation (FFC#28/2014, <i>Completed</i>)	

69. Braggion C	CF Clinical guidelines (FFC#25/2015, <i>Completed</i>)	68
70. Taccetti G	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> eradication in patients with cystic fibrosis: a randomised multicentre study comparing classic treatment protocols with classic treatment together with antibiotic treatment of upper airways (FFC#30/2015, <i>In progress</i>)	69
71. Cirilli N, Raia V	Intra-individual biological variation in sweat chloride concentrations (FFC#27/2015, <i>Completed</i>)	70
72. Tortoli E, Cariani L, Di Serio C, Niemann S	Transmissibility and clinical significance of <i>Mycobacterium abscessus</i> in patients with cystic fibrosis (FFC#27/2014, <i>Completed</i>)	71

13:00-13:10 Closing remarks: **Carlo Castellani** *A clinician's point of view on the FFC-network research*

13:10-13:30 Poster detachment

Notes

- The official language will be Italian, except plenary sessions 3, 4, 5 of November 25 and projects presented by foreign speakers, which will be in English.
- Each plenary session will have a brief presentation (3-4 minutes) by a chairman.
- The project presentations in the plenary sessions will have a maximum duration of 14 minutes, followed by 5 minutes of discussion.
- The presentations in the poster sessions will have a maximum duration of 8 minutes, followed by 5 minutes of discussion.
- The slides for the project presentations in the plenary sessions should not exceed the number to 15. They will be written in English, will have a simple setting and be legible from a distance (please, prove in advance the distance effect).
- The posters (printed on one sheet, with simple setup and clearly legible up to 2 meters) will have width of 90 cm and a height of 140 cm.
- All new or ongoing projects will be presented as posters even if some of them will have an oral presentation in some plenary sessions.
- All the abstracts of the projects completed are in press on **Journal of Postdoctoral Research** (www.postdocjournal.com) and marked on the title by (*).
- In the above index the projects are marked with the names of the principal investigators and partners. The corresponding abstracts in this brochure may also have the names of research collaborators.
- The presence of a clinical chairman in almost all sessions intends to contribute in the discussion to identify the binding of basic study with possible clinical perspectives.

APPENDICES

1. Archive of Publications & Congress Abstracts from FFC Projects	72
2. 2002-2016 FFC Projects: funding, publications and impact factor	107
3. FFC Network for CF Research	109
4. International Reviewers of FFC Projects	112
5. Research Funding by FFC	114
6. FFC Projects (2014-2016) Adopted by Supporters by Supporters	115

ABSTRACTS OF PRESENTATIONS

PLENARY SESSION 1 MICROBIOLOGY / INFECTION

1. Investigating the airway microbiome in cystic fibrosis patients with a severe decline in lung function: an opportunity for a personalized microbiome based therapy (*)

Bevvino A¹, Mengoni A², Taccetti G³, Ficarelli EV⁴, De Alessandri A⁵

¹Department for Sustainability of Production and Territorial Systems, ENEA, Italian National Agency for New Technologies, Energy and Sustainable Economic Development, Rome, Italy, ²Department of Biology, University of Florence, Florence, Italy, ³Department of Pediatric Medicine, Cystic Fibrosis Center, Anna Meyer Children's University Hospital, Florence, Italy, ⁴Cystic Fibrosis Microbiology and Cystic Fibrosis Center, Children's Hospital and Research Institute Bambino Gesù, Rome, Italy, ⁵Department of Pediatrics, Cystic Fibrosis Center, Gaslini Hospital, Genoa, Italy (FFC#14/2015, Completed)



Annamaria Bevvino, seconda da destra, con il suo gruppo di ricerca

Background. Cystic fibrosis (CF) is characterized by chronic airway infections involving a complex and dynamic microbial lung community. Though several studies have investigated the taxonomic composition of the airway microbiota, little is still known about the overall functional capabilities of the resident microbial populations and their relation to patient's lung disease status.

Hypothesis and objectives. Previous studies found changes in CF airway microbiota associated with a severe decline in lung function. The overall goal of this project – which follows the FFC#10/2014 project – is to deeply investigate the airway microbiome of stable (S) and substantial decliners patients (SD) and single patients' dynamics over a 15-month period, to discover the functional traits harbored by microbial communities and new microbiome-based biomarkers, which may be predictive of decline in lung function.

Methods. The microbial metagenomic content of airways specimens of CF patients was investigated by Illumina Hiseq technology. Shotgun metagenomic sequencing data were compared with patients' status to assess the presence of gene functions related to a severe decline in lung function and define new potential biomarkers.

Results. Results indicated that the severity of CF lung disease is associated with an imbalanced presence of antibiotic resistance genes and with a differential abundance of genes involved in metabolic pathways putatively correlated with

bacterial virulence. To deeply investigate single patients' dynamics of the sputum microbiome, a metagenomic longitudinal analysis was carried out. During the study period (15 months), sputum samples of twenty-one CF patients were collected over the 15 months' longitudinal survey at different time points (4-5 samplings for each patient). DNA extraction and metagenomic sequencing were performed, and a bioinformatic pipeline for data analysis was defined. Bioinformatic analyses are currently at run time, and final results being expected in a short period.

Spin-off for research & clinical purposes. Data obtained highlighted that different pulmonary conditions in patients with CF co-occur with a different microbiome gene repertoire. The whole set of metagenomic data will permit to discover new microbiome-based biomarkers, which could be used as predictive markers of severe decline in lung function, allowing earlier intervention and improving health care treatment of patients with CF.

Indagine del microbioma delle vie aeree nei pazienti con fibrosi cistica che presentano un severo declino della funzione polmonare: un'opportunità per una terapia personalizzata basata sul microbioma

Ragioni dello studio. La fibrosi cistica (FC) è caratterizzata da infezioni croniche delle vie respiratorie che sono la sede di una complessa e dinamica comunità di microorganismi. In questi ultimi anni, diversi studi hanno rivelato la composizione delle specie micobiche presenti nel polmone dei pazienti con FC ma le conoscenze sulla composizione genica e sulle funzioni specifiche del microbioma polmonare sono limitate.

Ipotesi e obiettivo. Due nostri recenti studi, che sono il risultato dei progetti FFC#8/2012 e FFC#10/2014/pilota, hanno dimostrato che il microbiota delle vie aeree dei pazienti affetti da FC cambia con il peggioramento della funzione polmonare. L'obiettivo principale di questo progetto - che segue al progetto FFC#10/2014 – è stato quello di analizzare il microbioma delle vie aeree di pazienti stabili (S) e con un severo declino della funzione polmonare (SD) e le sue variazioni nell'arco di un periodo di 15 mesi al fine di identificare le funzioni geniche del microbioma polmonare e conoscere come questa comunità varia la sua composizione nel tempo.

Metodi. Il sequenziamento metagenomico è stato effettuato mediante la tecnologia HiSeq Illumina. L'analisi bioinformatica delle sequenze ottenute è stata effettuata tenendo in considerazione le condizioni cliniche dei pazienti al fine di individuare l'eventuale associazione tra determinate funzioni geniche e il declino della funzione polmonare.

Risultati. I risultati hanno indicato che i pazienti con un differente grado di severità della malattia polmonare presentano un microbioma caratterizzato da un differente arricchimento dei geni correlati all'antibiotico resistenza e alla virulenza. Lo studio longitudinale ha permesso di raccogliere campioni di espettorato da 21 pazienti (S e SD) nel corso di 15 mesi di studio, a 4/5 tempi differenti. Sono stati eseguiti l'estrazione del DNA e il sequenziamento metagenomico ed è stata definita la pipeline bioinformatica per l'analisi delle sequenze che è tuttora in corso. I risultati della variazione nel tempo del microbioma polmonare saranno a breve disponibili.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. I dati ottenuti han-

no rivelato che differenti condizioni polmonari nei pazienti con FC rispecchiano una differente composizione genica del micromioma. L'intero data set delle sequenze metagenomiche permetterà di identificare biomarcatori che potranno essere utilizzati come marcatori predittivi del severo declino della funzione polmonare, permettendo un intervento precoce e migliorando il trattamento terapeutico dei pazienti FC.

2. Role of small RNA-based regulatory systems in cystic fibrosis airways infection by *Pseudomonas aeruginosa*: a new frontier in the identification of molecular targets for novel antibacterials (*)

Ferrara S¹, Macchi R¹, Falcone M¹, Rossi A², Ranucci S², Bragonzi A², Cigana C², Bertoni G¹

¹Department of Biosciences, Università degli Studi di Milano, Milan, Italy, ²Infections and Cystic Fibrosis Unit, Division of Immunology, Transplantation and Infectious Diseases, San Raffaele Scientific Institute, Milan, Italy
(FFC#13/2015, Completed)



Giovanni Bertoni, titolare del progetto

Background. The comprehension of molecular mechanisms underlying CF airways infection by *Pseudomonas aeruginosa* is instrumental to the design of clinical protocols to prevent and contrast it. Emerging candidates as molecular regulators of infection and virulence in *P. aeruginosa* are small RNAs (sRNAs), which in other bacterial pathogens have been shown to play key roles in modulating cellular processes linked to pathogenesis (1).

Hypothesis and objectives. From this perspective, the main aim of this project was the evaluation of the impact on *P. aeruginosa* virulence and infection of three new sRNAs recently identified in our lab and named ErsA, ReaL and PesA (2, 3).

Methods. This main goal was mainly achieved monitoring the secretion of the pro-inflammatory interleukin IL-8 and cell viability following infection of a CF bronchial epithelial cell line with *P. aeruginosa* wt and sRNA knock-out mutant strains.

Results. Remarkably, the sRNA mutants showed to be less pro-inflammatory than the wt inducing a lower production of IL-8. In addition, the sRNA mutants induced lower cell death of infected bronchial epithelial cells. To evaluate *in vivo* the behaviour of the sRNA mutants, challenges of them in murine models of airways infection are in progress. Finally, the diffusion of ErsA, ReaL and PesA among *P. aeruginosa* isolates was evaluated. The conclusion of this approach was that these three sRNAs are widespread among *P. aeruginosa* clinical isolates from CF patients and environmental strains.

Spin-off for research and clinical purposes. The achievements of this project have the potential to foster the development of innovative antimicrobial strategies. In fact, illuminating

the functional roles of sRNAs in host/pathogen interaction can provide the fundamental knowledge for the development of next-generation antibiotics using sRNAs and the virulence functions that they regulate as novel targets. In the case of the use of sRNAs as novel targets, the information resulting from mechanistic studies on the interactions with target genes will be invaluable for identifying drug molecules that can bind and inhibit sRNA functions. In addition, due to their specificity, these drugs would preserve CF patient healthy commensal flora.

Ruolo di sistemi regolati da piccoli RNA non codificanti nell'infezione di *Pseudomonas aeruginosa* delle vie aeree in malati di fibrosi cistica: una nuova frontiera nell'identificazione di bersagli molecolari per antibatterici innovativi

Ragioni dello studio. La comprensione dei meccanismi molecolari che si trovano alla base dell'infezione delle vie aeree di pazienti FC da parte di *Pseudomonas aeruginosa* è fondamentale per progettare nuovi protocolli clinici di terapia. Candidati emergenti per il ruolo di regolatori molecolari della virulenza in *P. aeruginosa* sono i piccoli RNA non codificanti (sRNA), che in altri batteri patogeni hanno dimostrato giocare un ruolo chiave nella modulazione di processi legati alla patogenesi.

Ipotesi e obiettivi. Obiettivo principale di questo progetto è stata la valutazione dell'impatto sull'infezione e sulla virulenza di *P. aeruginosa* di un pannello di tre nuovi sRNA recentemente identificati nel nostro laboratorio: ErsA, ReaL e PesA.

Metodi. Questo obiettivo principale è stato raggiunto monitorando sia la secrezione dell'interleukina pro-infiammatoria IL-8, sia la vitalità di una linea cellulare epiteliale bronchiale FC dopo infezione con *P. aeruginosa* wild-type e ceppi mutanti in cui i tre sRNA erano stati inattivati per delezione.

Risultati. I mutanti per gli sRNA si sono rivelati meno pro-infiammatori rispetto al wild-type, inducendo una minore produzione di IL-8; inoltre i ceppi mutanti si sono mostrati indurre una minore mortalità nelle cellule bronchiali infette. Per valutare *in vivo* il comportamento dei mutanti, sono in corso esperimenti di infezione in modelli murini. Infine si è voluta valutare la diffusione degli sRNA ErsA, ReaL e PesA in isolati di *P. aeruginosa*. La conclusione è che questi tre sRNA sono molto diffusi sia in isolati clinici di *P. aeruginosa* da pazienti FC, sia in ceppi ambientali.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. I risultati di questo progetto hanno la potenzialità di permettere lo sviluppo di strategie antimicrobiche innovative. Infatti, lo studio del ruolo funzionale degli sRNA nell'interazione ospite/patogeno può fornire una conoscenza fondamentale per il disegno di antibatterici di nuova generazione che usino gli sRNA o le funzioni di virulenza da essi regolati come bersagli. Nel caso di utilizzo degli sRNA come bersaglio, l'informazione derivante dagli studi meccanicistici sulla interazione sRNA/target è importantissima per identificare delle molecole che leggono gli sRNA e ne inibiscano la funzione. In aggiunta, data la loro specificità di azione su *P. aeruginosa*, queste molecole preservano la normale flora batterica, prevenendo quindi infezioni secondarie di altri opportunisti.

3. Development of metallo-enzyme inhibitors to overcome *Pseudomonas aeruginosa* antibiotic-resistance in cystic fibrosis patients (*)

Gemma S¹, Brogi S¹, Brindisi M¹, Vallone A¹, De Luca F², Docquier JD²

¹Department of Biotechnology, Chemistry, and Pharmacy,
²Department of Medical Biotechnology, University of Siena
(FFC#16/2015, Completed)



Sandra Gemma, titolare del progetto, e Jean-Denis Docquier, partner

Background. *Pseudomonas aeruginosa* is the most dominant pathogen associated with adverse clinical outcomes in patients with cystic fibrosis (CF). Anti-pseudomonal β -lactams are the mainstay of therapy for the treatment of chronic *P. aeruginosa* lung infections CF patients. Unfortunately, this pathogen becomes increasingly resistant to available antibiotics and the global dissemination of multidrug resistant *P. aeruginosa* strains with acquired carbapenemase genes is a public health concern.

Hypothesis and objectives. One important mechanism of resistance to β -lactams is the production of one or more β -lactamase(s), belonging to either the active serine enzymes or the metallo- β -lactamases (MBLs), which efficiently inactivate these antibiotics. Acquired MBLs are important resistance factors in *P. aeruginosa*, conferring resistance to most β -lactams, including the last-resort carbapenems. Considering the increasing prevalence of MBL-producing strains in CF patients (as high as >50% in some settings), our goal is to perform the preclinical investigation and optimization of MBLs inhibitors to be used in combination with currently-available β -lactam antibiotics.

Methods. Preclinical investigation of our hit compound and selected novel compounds was performed through assessment of a series of drug-like properties including solubility and chemical stability that was assessed through chromatographic methodologies. Toxicity was evaluated on the mouse fibroblasts NIH3T3 cells and genotoxicity was evaluated using a classical Ames test. The compounds synthesized were tested against purified enzyme IMP-1, VIM-2 and NDM-1 MBL enzymes using a spectrophotometric assay. In addition, selected serine- β -lactamases were also tested to evaluate the spectrum of inhibition. The potential synergistic activity of the tested compounds was evaluated by the agar disk diffusion method, using laboratory strains producing the MBL of interest.

Results. From our structure-based high-throughput docking (HTD) campaign on three clinically-relevant acquired MBLs (IMP-1, NDM-1 and VIM-2) we investigated novel classes of potential MBL inhibitors. Through a concerted effort of computational and synthetic chemistry, we studied the structure-activity relationships of the compounds, and we also analyzed selected drug-like properties such as solubility, chemical stability and toxicity. The initial hit NF1810 was optimized providing a broad-spectrum inhibitor, able to potentiate the in vitro activity of cefoxitin on a VIM-2-producing *E. coli* strain. However, specific solubility and toxicity issues need to be solved in order to identify inhibitors suitable for in vivo evaluation.

Spin-off for research & clinical purposes. No MBL inhibitors have been approved in therapy today. Novel hits were identified in this project and their further optimization could lead to the selection of preclinical candidates to establish the proof-of-concept for novel combinations therapies for the treatment of lung infections in CF patients.

Sviluppo di inibitori di metallo-enzimi per combattere i meccanismi di resistenza ai farmaci di *P. aeruginosa* nei pazienti affetti da fibrosi cistica

Ragioni dello studio. Gli antibiotici beta-lattamici sono la principale terapia per il trattamento delle infezioni polmonari croniche da *P. aeruginosa* in pazienti affetti da fibrosi cistica (FC). Tuttavia questo agente patogeno ha acquisito una sempre maggiore resistenza agli antibiotici oggi disponibili

Ipotesi e obiettivi. Uno dei meccanismi di resistenza principali agli antibiotici beta-lattamici è rappresentato dalla produzione da parte di *P. aeruginosa* di una o più tipi di beta-lattamasi, enzimi in grado di degradare gli antibiotici beta-lattamici rendendoli inattivi. Considerando l'elevata incidenza di *P. aeruginosa* che produce metallo-beta-lattamasi in pazienti affetti da FC in specifici contesti, il nostro obiettivo è stato quello di sviluppare degli inibitori di tali enzimi. Tali composti, somministrati insieme agli antibiotici, sono in grado di disattivare i meccanismi di resistenza di *P. aeruginosa*, rendendolo nuovamente suscettibile al trattamento con antibiotici.

Metodi. L'investigazione preclinica del nostro composto di riferimento e dei nuovi composti sintetizzati è stata effettuata attraverso la valutazione di una serie di proprietà chimico-fisiche come solubilità e stabilità chimica attraverso metodi cromatografici. La tossicità è stata valutata in vitro su cellule di fibroblasti murini e la genotossicità è stata valutata attraverso il classico test di Ames. I composti sintetizzati sono stati testati sugli enzimi IMP-1, VIM-2 e NDM-1 usando un saggio di tipo fluorimetrico. L'attività sinergica è stata valutata usando il metodo della diffusione su disco di agar.

Risultati. Nell'ambito del progetto abbiamo utilizzato metodologie computazionale per la individuazione di nuove strutture chimiche in grado di inibire le tre MBL di nostro interesse (IMP-1, NDM-1 e VIM-2). Le molecole individuate in silico sono state poi testate per la loro attività inibitoria e sono stati sintetizzati una serie di analoghi per lo studio delle relazioni struttura-attività. Per alcuni derivati sono state anche analizzate delle proprietà come solubilità, stabilità chimica e tossicità che sono importanti per la selezione di un potenziale candidato preclinico. Il nostro composto iniziale, NF1810, è stato quindi ottimizzato attraverso l'identificazione e la sintesi di un suo derivato che ha dimostrato maggiore potenza in vitro ed efficacia nei test microbiologici. Tuttavia rimangono da ottimizzare alcuni parametri legati alla solubilità e/o tossicità prima di una eventuale valutazione di efficacia in vivo in modelli animali di infezione.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. Al momento non ci sono inibitori delle MBL approvati in terapia. I nuovi composti individuati nell'ambito di questo progetto e la loro successiva ottimizzazione saranno importanti per determinare l'efficacia di terapie in combinazione per superare la resistenza batterica nei pazienti affetti da FC.

4. Phage Therapy against *Pseudomonas aeruginosa* Infections in cystic fibrosis patients (*)

Forti F¹, Briani F¹, Horner D¹, Ghisotti D¹

¹Dep. of Biosciences, University of Milan, Italy (FFC#17/2015, Completed)

Background and rationale. *Pseudomonas aeruginosa* is the most common pathogen found in the lung of cystic fibrosis patients (CF). The quality of life of CF patients largely depends on the success or failure of antibiotic treatment. Now, the alarming diffusion of isolates of *P. aeruginosa* multi-resistant to the antibiotics currently in use makes urgently need to develop new antibacterial therapies.

Hypothesis and objectives. Phage therapy, the use of the



Daniela Erica Ghisotti,
titolare del progetto

natural enemies of bacteria, is garnering renewed interest as bacterial resistance to antibiotics becomes widespread. This therapy, used for decades in Eastern Europe, can be considered as a therapeutic alternative or a complementary treatment to antibiotics in curing lung infections in CF patients.

Essential methods. Advantages on antibiotic therapy are that bacteriophages: 1) multiply at the infection site, increasing their number, whereas antibiotics are metabolized and eliminated from the body; 2) target only specific bacteria, with no effect on commensal flora; 3) contrary to antibiotics that are defined chemical molecules, phages can mutate and overcome bacterial resistance; 4) have the capacity to reach bacteria trapped inside biofilms, the matrix that acts as a shield for pathogenic bacteria in the CF patients lungs.

Preliminary results. During this one-year project we isolated and characterized some tens of phages, selecting 6 of them that presented a different host range on *P. aeruginosa* clinical strains. These 6 phages were mixed in a cocktail and found to be able to efficiently kill a number of different *P. aeruginosa* clinical strains *in vitro*. We also determined the ability of the phage cocktail to destroy a preformed *P. aeruginosa* biofilm. Electron microscopy indicated that 3 are Podoviridae, 2 Myoviridae and 1 Siphoviridae. The genome sequences of 3 of them have been completed, the other are in progress. Genome analysis of the sequences indicated the absence of any undesirable gene, suggesting that the phages could be used without problems for human therapy. In the future, we intend to validate the efficacy of our phage cocktail *in vivo*, using two different model systems: the traditional mice model, and a new model that uses the *Galleria mellonella* larvae. The latter is less expensive and ethically acceptable, and can be extended to a high number of different *P. aeruginosa* clinical strains, including multi-resistant strains.

Expected results and their significance. We expect that our phage cocktail has the potential for development as a therapeutic to control *P. aeruginosa* infections in CF patients.

Terapia fagica per combattere le infezioni da *Pseudomonas aeruginosa* in pazienti con fibrosi cistica

Ragioni dello studio. *Pseudomonas aeruginosa* è il batterio patogeno più comune in infezioni polmonari di pazienti con fibrosi cistica. L'uso degli antibiotici ha permesso di controllare le infezioni, migliorando la qualità di vita dei pazienti. Tuttavia, negli ultimi anni, si sono diffusi ceppi batterici multiresistenti agli antibiotici, che rendono inefficace la cura. Di conseguenza, in tutto il mondo, si cercano nuove terapie capaci di sostituirli.

Ipotesi e obiettivi. Nemici naturali dei batteri sono i fagi, virus che infettano in modo specifico le cellule batteriche, causandone la morte. La terapia basata sull'utilizzo dei fagi per prevenire o eliminare un'infezione batterica è utilizzata in molti paesi dell'Est Europa, ma nella medicina occidentale si è

cominciato solo da pochi anni a prestarle le dovute attenzioni.

Metodi essenziali. I vantaggi principali dell'uso dei fagi per combattere l'infezione sono: 1) la capacità dei fagi di infettare indifferentemente i batteri sensibili o resistenti agli antibiotici e quindi di agire contro batteri multiresistenti; 2) la specificità d'azione, diretta solo verso i batteri nocivi, preservando i batteri utili della flora commensale; 3) la capacità dei fagi di "adattarsi" all'eventuale insorgenza di batteri resistenti, acquisendo per mutazione la capacità di infettare i batteri resistenti; 4) la capacità dei fagi di penetrare all'interno del biofilm, una specie di "scudo" prodotto da *P. aeruginosa*, difficilmente penetrabile agli antibiotici. Tutte queste caratteristiche rendono i fagi una promettente arma terapeutica contro le infezioni batteriche.

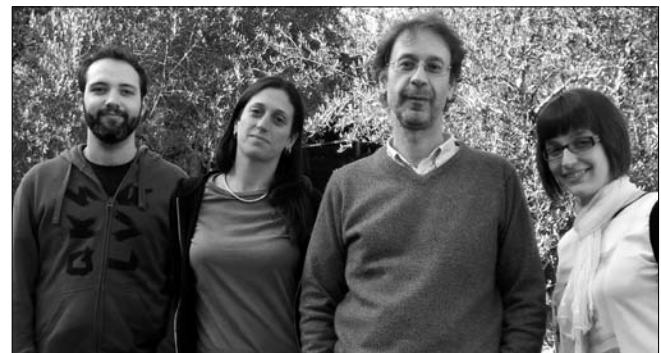
Risultati preliminari. Nel corso di questo progetto abbiamo isolato e caratterizzato alcune decine di fagi, tra i quali ne abbiamo scelto 6 che, mescolati in un cocktail, si sono mostrati efficaci *in vitro* per combattere *P. aeruginosa*. I sei fagi sono stati analizzati al microscopio elettronico e il loro genoma è stato sequenziato, per verificare che non contenessero geni "indesiderati" per l'uso terapeutico nell'uomo. Intendiamo proseguire questo studio, verificando l'efficacia del trattamento *in vivo* di infezioni da *P. aeruginosa* sia in topo sia in larve di *Galleria*, un nuovo modello, poco costoso e eticamente accettabile, con cui verificare l'azione del cocktail contro infezioni causate da ceppi di *P. aeruginosa* di diverso tipo, compreso quelli multiresistenti.

Risultati attesi e loro significato. Il nostro obiettivo è riuscire a trasformare il cocktail di fagi in uno strumento terapeutico per combattere le infezioni da *P. aeruginosa* nei pazienti affetti da FC.

5. Antimetabolite drugs as inhibitors of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm growth and virulence: potential chemotherapics and tools in target identification for new antimicrobials (*)

Landini P¹

¹Dep. of Biosciences, University of Milan, Italy (FFC#18/2015, Completed)



Paolo Landini, secondo da destra, con il suo giovane team di ricerca

Background. In cystic fibrosis (CF) patients, *Pseudomonas aeruginosa*-induced pneumonia requires frequent antibiotic treatment. Low sensitivity to many antibiotics by *P. aeruginosa* has prompted the search for novel drugs aimed at the specific inhibition of pathogenesis-related processes. Antimetabolite drugs, such as the pyrimidine analogue flucytosine (FC), are effective inhibitors of biofilm formation and of virulence factors' production, and show promising activity against *P. aeruginosa* infections in animal models. However, their utilization in therapy is hindered by possible toxicity, occurrence of resistance, and by lack of precise information of their mechanism of action.

Hypothesis and objectives. The main hypothesis behind this work was that antimetabolite drugs other than FC could share its properties and affect *P. aeruginosa* virulence and persistence in the host. In addition, we wanted to establish the specific mode of action of FC, as a starting point towards the development of new drugs sharing the same mechanism of action and showing lower risks of long term toxicity.

Essential Methods. We tested antimetabolite drugs for their antimicrobial activity on both PAO1 and PA14 strains of *P. aeruginosa*. Potential antivirulence activity was tested as inhibition of pioverdine production. To understand FC mode of action we performed a screening using a genome library to identify genes conferring resistance to FC activity.

Results. Unlike FC, other antimetabolite drugs and inhibitors of nucleotide biosynthesis failed to inhibit pioverdine production, despite showing some antibiofilm activity, with the only exception of fluorouridine, a similar compound to FC. This result suggests that pioverdine inhibition by FC is mediated by a mechanism of action unique to this molecule and not shared with other antimetabolites. To identify FC molecular target, we expressed a *Salmonella* genome library in *Escherichia coli*, in which FC also strongly inhibits expression of specific genes. We found that FC effects were reversed by expression of RNase E, an essential protein involved in RNA turnover.

Spin-off for research & clinical purposes. Our results suggest that RNase E might be the target of FC. Thus, it is possible that inhibitors of RNase E can be identified with similar antivirulence effect with higher efficacy *in vivo* and lower risk of long term toxicity.

Antimetaboliti come inibitori del biofilm e della virulenza in *Pseudomonas aeruginosa*: potenziale uso come chemioterapici e strumenti per l'identificazione di bersagli per nuovi antibiotici.

Ragioni dello studio. Nei pazienti di fibrosi cistica (CF), la polmonite da *Pseudomonas aeruginosa* richiede costanti trattamenti antibiotici. La scarsa sensibilità di *P. aeruginosa* a molti antibiotici ha portato a ricercare nuovi farmaci mirati all'inibizione dei processi di patogenesi. Farmaci antimetaboliti, come ad esempio la flucitosina (FluC), sono inibitori efficaci della formazione di biofilm e della produzione di fattori di virulenza, e hanno mostrato un'attività promettente contro l'infezione da *P. aeruginosa* in modelli animali. Tuttavia, il loro impiego in terapia è ostacolato dalla loro possibile tossicità, e dalla mancanza di informazioni precise sul loro meccanismo d'azione.

Ipotesi ed obiettivi. L'ipotesi principale alla base di questo lavoro era che altri farmaci antimetaboliti potessero avere effetti simili alla FluC, inibendo la virulenza di *P. aeruginosa* e risultando nella sua eradicazione. Inoltre, volevamo comprendere il meccanismo di azione specifico di FluC, come punto di partenza per lo sviluppo di nuovi farmaci che colpissero lo stesso bersaglio ma che presentassero minori rischi di tossicità a lungo termine.

Metodi. Abbiamo saggiato vari farmaci antimetaboliti per la loro attività antimicrobica sui ceppi di *P. aeruginosa* PAO1 e PA14. Per capirne la potenziale attività contro la virulenza è stata testata l'inibizione della produzione di pioverdina, un composto importante nella patogenesi da *P. aeruginosa*. Abbiamo infine identificato con metodi genetici il possibile bersaglio della FluC.

Risultati. Diversamente dalla FluC, altri farmaci antimetaboliti, pur mostrando qualche attività antibiofilm non inibiscono la produzione di pioverdina. Questo risultato suggerisce che la FluC abbia caratteristiche specifiche diverse da altri farmaci antimetaboliti. Per capire come funziona esattamente la FluC abbiamo cercato, con esperimenti genetici, il suo bersaglio, cioè la proteina cellulare del batterio che ne

viene inibita. I nostri esperimenti suggeriscono che il possibile bersaglio di FluC sia la proteina RNase E, una proteina coinvolta nella degradazione dell'RNA.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. I nostri risultati suggeriscono che la RNase E possa essere il bersaglio della FluC. Pertanto, è possibile che si possano individuare nuovi inibitori di questa proteina con maggiore efficacia ed un minor rischio di tossicità a lungo termine della FluC.

6. Development and preclinical testing of a novel antimicrobial peptide to treat *Pseudomonas aeruginosa*-induced lung infections (*)

Mangoni ML¹, Cappiello F¹, Casciaro B¹, Luca V¹, Chen C², Lin Q², Di PY²

¹Department of Biochemical Sciences, Sapienza University of Rome, Rome-Italy, ²Department of Environmental and Occupational Health, University of Pittsburgh, USA (FFC#11/2014, Completed)



Maria Luisa Mangoni, titolare del progetto

Background. *Pseudomonas aeruginosa* is the most predominant lung pathogen in patients with cystic fibrosis (CF). It is quite difficult to eradicate because of its acquired resistance to most available antibiotics and ability to form sessile communities or biofilms, in a protective extracellular matrix. Cationic antimicrobial peptides (AMPs) hold promise as future anti-infective agents.

Hypothesis and objectives. Our objective was to develop a short-sized AMP from frog skin, Esc(1-21) and/or its diastereomer containing two D-amino acids, for treatment of *P. aeruginosa* lung infections. To this aim: (i) an *in-vitro* analysis of the anti-pseudomonal, anti-inflammatory, wound healing properties of the two peptides, and (ii) preclinical testing to establish both the peptides' safety profiles and therapeutic dosages were performed.

Methods. A multidisciplinary approach combining biochemical, cell biology, microbiological techniques, as well as murine models of *P. aeruginosa* acute lung infections were used to attest our purposes.

Results. Esc(1-21) rapidly kills planktonic *P. aeruginosa* cells and eradicates its biofilms with a membrane-perturbing activity as a plausible mode of action. In addition, the peptide limits the induction of bacterial resistance and neutralizes the toxic effect of *P. aeruginosa* lipopolysaccharide. However, by replacing only two L-amino acids of Esc(1-21) with the corresponding D-enantiomers, the resulting diastereomer is significantly: (i) less susceptible to host/bacterial proteases; (ii) more active in killing *Pseudomonas* internalized into bronchial epithelial cells; (iii) more efficient in stimulating bronchial cells migration (also in infectious-mimicking conditions) than the wild-type molecule, and harmless on airway epithelial cells. Furthermore, the diastereomer shows a better efficacy than Esc(1-21) in re-

ducing the lung bacterial burden in murine models of acute *P. aeruginosa* lung infections upon a single intratracheal instillation at 0.1 mg/kg, 2h after infection, without causing any pulmonary inflammation or lung epithelial injury.

Spin-off for research and clinical purposes. Our findings indicate high potential to develop an AMP-based pharmaceutical formulation against *P. aeruginosa* lung infections in CF, by local administration. This would not only eliminate bacteria and attenuate inflammatory response but would also promote re-epithelialization of the injured tissue after infection. Further studies will be necessary to identify the best strategy for pulmonary release of the peptide at effective concentrations.

Sviluppo e test preclinico di un nuovo peptide antimicrobico per il trattamento di infezioni polmonari indotte da *Pseudomonas aeruginosa*

Ragioni dello studio. *Pseudomonas aeruginosa* è il microorganismo patogeno predominante nei polmoni di pazienti con fibrosi cistica (FC). È molto difficile da debellare a causa della sua acquisita resistenza agli antibiotici correnti e perché è in grado di formare biofilm in una matrice adesiva e protettiva. Peptidi antimicrobici naturali (AMP) rappresentano promettenti nuovi agenti anti-infettivi.

Ipotesi e obiettivi. Obiettivo del Progetto è stato quello di sviluppare un AMP da pelle di anfibio di piccole dimensioni (21 amminoacidi), denominato Esc(1-21), e/o il suo diastereomer contenente due D-amminoacidi, per il trattamento delle infezioni polmonari da *P. aeruginosa*. A tale scopo, sono stati eseguiti studi sulle proprietà antibatteriche, anti-infiammatorie e cicatrizzanti dei due peptidi, e test preclinici per stabilire sia la loro tollerabilità che dose terapeutica.

Metodi. Impiego di un approccio multidisciplinare coinvolgente tecniche biochimiche, microbiologiche e modelli animali di infezione polmonare acuta e cronica da *P. aeruginosa*.

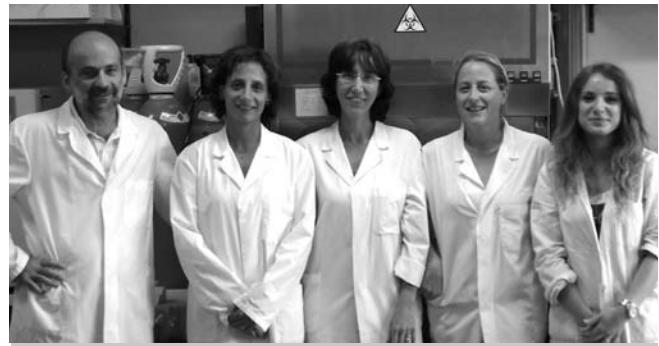
Risultati. Il peptide Esc(1-21) ha una rapida velocità di uccisione della forma libera e sessile di *Pseudomonas* contemporaneamente ad un'azione membranolitica. Inoltre è in grado di limitare l'induzione di resistenza batterica e di neutralizzare l'effetto tossico del lipopolisaccaride di *P. aeruginosa*. Tuttavia, sostituendo due soli L-amminoacidi nel peptide Esc(1-21) con i corrispettivi enantiomeri di tipo D, il risultante diastereomer si è rivelato essere (i) più resistente alle proteasi umane e batteriche; (ii) non tossico sull'epitelio respiratorio; (iii) più attivo nell'uccidere *Pseudomonas* internalizzato in cellule bronchiali e (iv) con una più pronunciata attività di riepitelizzazione *in vitro* (anche in condizioni che simulano la presenza di un'infezione). Ha inoltre una migliore efficacia rispetto al peptide Esc(1-21) nel ridurre la carica batterica in modelli murini di infezione polmonare acuta da *P. aeruginosa*, dopo una singola instillazione intra-tracheale al dosaggio di 0.1 mg/kg, due ore dopo l'infezione, senza provocare alcun danno a livello polmonare.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. Tali risultati indicano elevate potenzialità per la preparazione di nuovi farmaci a base peptidica da somministrare localmente contro le infezioni polmonari da *P. aeruginosa* in FC. Questi permetterebbero non soltanto di eliminare i batteri ed attenuare la risposta infiammatoria, ma anche di promuovere la cicatrizzazione del tessuto danneggiato in seguito ad infezione. Ulteriori studi saranno necessari per individuare la migliore formulazione per un rilascio diretto del peptide a livello polmonare.

7. Targeting extracellular protein disulphide isomerase to control *Burkholderia cenocepacia* lung infections (*)

Pacello F¹, D'Orazio M¹, Battistoni A¹

¹Department of Biology, University of Rome Tor Vergata, Roma, Italy (FFC#13/2014, Completed)



Francesca Pacello, al centro, con i colleghi di laboratorio

Background. We have shown that the interaction between *Burkholderia cenocepacia* and lung epithelial cells is mediated by redox sensitive enzymes of the protein disulphide isomerase (PDI) family, in particular by ERp57. In fact, either thiol reactive agents (DTT, GSH, and DTNB) or ERp57 inhibitors are able to drastically reduce the adhesion and the invasion of *B. cenocepacia* into epithelial cells and to attenuate the pro-inflammatory response elicited by bacteria. These observations suggest that defects in GSH export in the airway surface liquid, observed in cystic fibrosis (CF) patients, may favour *B. cenocepacia* infection.

Hypothesis and objectives. ERp57 inhibitors, in particular epigallocatechin-3-gallate (EGCG), the most abundant green tea catechin, could be useful in therapies aimed at controlling *Burkholderia* lung infection in CF patients. To this aim we have evaluated: 1) the effect of EGCG on *Burkholderia* infection in different cell types; 2) the effect of EGCG on *Burkholderia* intracellular replication; 3) the efficacy of EGCG in infected mice.

Methods. The effects of EGCG on *B. cenocepacia* infections have been investigated either in epithelial or macrophage cell lines and preliminary tests have been carried out to evaluate its efficacy in mice.

Results. We have obtained convincing evidence that ERp57 plays a role in *Burkholderia* infections in respiratory epithelial cells. In fact, we have demonstrated that EGCG is able to strongly reduce IL-8 and IL-6 release and IL-8, IL-1 β and TNF α expression levels in epithelial cells infected by *Burkholderia*. In contrast, we have not observed any involvement of PDI in the uptake and intracellular survival of *B. cenocepacia* into differentiated monocytes. Within these cells, *Burkholderia* survives and replicates by evading autophagy through the inhibition of the autophagolysosome formation and the alteration of the phosphorylation state of mTOR and S6Kinase. The pre-stimulation of autophagy into macrophages limits *Burkholderia* intracellular survival. In order to test the possible ability of EGCG to limit *Burkholderia* lung infections we have carried out pilot experiments to optimize bacterial infective dose and drug administration in endotracheally infected mice.

Spin-off for research & clinical purposes. This study has provided preliminary evidences supporting the usefulness of EGCG in therapies aimed at the control of *B. cenocepacia* in CF lung. In perspective, it could be interesting hypothesize a combined therapy based on EGCG and autophagy inducers.

Utilizzo di inibitori della proteina Disolfuro Isomerasi extracellulare per controllare le infezioni polmonari di *Burkholderia cenocepacia*

Ragioni dello studio. L'infezione delle cellule epiteliali respiratorie con *Burkholderia cenocepacia* è mediata da una proteina di membrana, ERp57, dotata di tioli sensibili a ossidanti/riducenti. Questa proteina appartiene alla famiglia delle disolfuro isomerasi (PDI). Abbiamo osservato che la pre-

senza durante l'infezione di inibitori di ERp57 o di molecole che reagiscono con tioli riducono drasticamente l'infettività di *B. cenocepacia* in cellule epiteliali respiratorie in coltura, nonché la conseguente risposta infiammatoria. Queste osservazioni suggeriscono che il difetto, tipico della fibrosi cistica (FC), nell'esporto del GSH nel liquido che riveste le vie aeree, possa favorire le infezioni di *Burkholderia*.

Ipotesi e obiettivi. Inibitori di ERp57 e in particolare l'epigallocatechina-3-gallato (EGCG), la principale catechina del tè verde, potrebbero essere utilizzati come terapie contro le infezioni polmonari da *Burkholderia*. A tal fine abbiamo valutato: 1) l'efficacia di EGCG su diverse linee cellulari; 2) se EGCG influenzava la sopravvivenza intracellulare di *Burkholderia* nelle cellule infette; 3) l'efficacia di EGCG in modelli di infezione animale.

Metodi. Abbiamo valutato gli effetti di EGCG in cellule in coltura e test preliminari sono stati condotti per valutare la sua efficacia nei topi.

Risultati. Abbiamo dimostrato che ERp57 è coinvolta nell'infezione delle cellule epiteliali respiratorie e che in

tali cellule EGCG è in grado di limitare fortemente la risposta pro-infiammatoria indotta da *Burkholderia*. Abbiamo osservato che né ERp57, né altre PDI sono invece coinvolte nella fagocitosi e nella sopravvivenza di *Burkholderia* nei macrofagi. All'interno di queste cellule *Burkholderia* sopravvive e replica evadendo il processo autofagico, bloccando la formazione dell'autofagolisosoma deputato alla rimozione del patogeno. Il blocco dell'autofagia avviene alterando la fosforilazione di mTOR e S6 chinasi. L'induzione dell'autofagia prima dell'infezione riduce la sopravvivenza di *Burkholderia* all'interno dei macrofagi. Per valutare se l'EGCG possa limitare le infezioni polmonari da *Burkholderia*, abbiamo effettuato esperimenti piloti per ottimizzare la dose infettiva batterica e la modalità di somministrazione del trattamento nei topi.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. I risultati di questa ricerca suggeriscono che l'EGCG possa essere effettivamente utile nelle terapie finalizzate al controllo di *B. cenocepacia* in FC, in particolare se associata ad agenti in grado di indurre l'autofagia.

PLENARY SESSION 2

CFTR RESCUE 1

8. The plant cytokine kinetin and its analogues as potential therapeutic agents to correct CFTR splicing defects

Straniero L¹, Soldà G¹, Rimoldi V¹, Giannone V², Ferrari F², Colombo C³, Asselta R¹, Orrenius C⁴, Seia M², Duga S¹

¹Department of Biomedical Sciences, Humanitas University, Rozzano, Milan, Italy and Humanitas Clinical and Research Center, Rozzano, Milan, Italy, ²Medical Genetics Laboratory, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milan, Italy, ³Cystic Fibrosis Center of Milan, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milan, Italy, ⁴Nerviano Medical Sciences, Discovery Oncology-Chemistry, Computational Sciences Unit, Nerviano, Italy (FFC#5/2015, In progress)



Stefano Duga, primo a sinistra, titolare del progetto, e Manuela Seia, al centro nella foto a destra, partner, con le collaboratrici di laboratorio

Background. Near 14% of CF mutations are classified as splicing defects. Besides severe mutations, other variants are known to modulate the correct CFTR splicing, the most important being the polymorphic TG₍₉₋₁₃₎T_(5,7,9) locus, which influences exon 10 inclusion and has been associated with CF monosymptomatic forms.

Hypothesis & objectives. Among correction strategies developed to rescue/increase normal splicing, the plant cytokinin kinetin was shown to be effective in familial

dysautonomia and neurofibromatosis. Our preliminary results encourage to further investigate the therapeutic potential of kinetin in both monosymptomatic and typical CF and to perform high-throughput screening of kinetin analogues to identify new therapeutics.

Methods. Confirm the effect of kinetin on exon 10 inclusion in different cell systems. Evaluate the effect of kinetin on patient-derived cells (primary bronchial epithelial cells, epithelial cells from nasal brushing). Define kinetin-sensitive exons and potential kinetin-responsive elements at the genome scale to better understand the molecular mechanism of action. Identify novel small molecules acting on splicing by virtual high-throughput screening. Validate lead compounds by cell-based screening using fluorescent reporter vectors. Explore the possibility to use kinetin and kinetin analogues to correct CF-causing splicing mutations

Results. During this 1st year of the project we confirmed the effect of kinetin on exon-10 inclusion both on the endogenous transcript and in cells transiently transfected with CFTR minigenes carrying different arrays of TG/T repeats. Tested the efficacy of additional compounds: RECTAS and analogs of kinetin and RECTAS carrying a thiophen group substituting the furan group. RECTAS proved to be able to partially correct CFTR exon 10 splicing in Caco2 cells at a concentration ~10 fold lower than kinetin. Analyzed the global effect of kinetin on Caco2 transcriptome by RNAseq experiments, confirming that kinetin impacts on the expression level of a limited number of genes. Produced a dual-fluorescence reporter vector for the validation of lead compounds by cell-based screening. Confirmed the effect of kinetin on CFTR splicing in cultured epithelial cells from nasal brushing of 3 CF patients.

Spin-off for research & clinical purposes. Splicing modulators leading to the augmentation of CFTR mRNA might be used as "CFTR amplifier" drugs potentially helpful to enhance other CFTR modulating agents in combination therapy.

La citochina vegetale kinetina e suoi analoghi come potenziali composti terapeutici per la correzione dei difetti di splicing del gene CFTR

Ragioni dello studio. Circa il 14% delle mutazioni causali della Fibrosi Cistica (FC) sono difetti di splicing, cioè interferiscono con la maturazione delle molecole (mRNA) che portano l'informazione per la sintesi proteica. Oltre a queste mutazioni gravi, altre varianti sono note modulare lo splicing di CFTR: la più importante è una regione contenente diverse ripetizioni dei nucleotidi TG e T. Questa variante influenza l'inclusione di una regione del mRNA (esone 10) ed è stata associata a forme monosintomatiche di FC.

Ipotesi e obiettivi. Recenti progressi nel trattamento della FC hanno dimostrato l'efficacia di farmaci mutazione-specifici, quali i potenziatori e i correttori. Questo tipo di terapia non è oggi disponibile per pazienti con mutazioni di splicing.

L'ormone vegetale kinetina è stato utilizzato con successo per correggere lo splicing in 2 malattie genetiche gravi (disautonomia familiare e neurofibromatosi). Noi proponiamo di studiare il potenziale terapeutico della kinetina nel trattamento della FC causata da difetti di splicing e di identificare altre molecole simili da utilizzare come farmaci.

Metodi. Inizieremo col verificare la capacità della kinetina di correggere lo splicing di CFTR in modelli cellulari, per poi applicare lo stesso approccio a cellule derivate da pazienti. In parallelo, cercheremo nuove molecole, simili alla kinetina, attraverso un'analisi computerizzata di una libreria virtuale che raccoglie le strutture chimiche di migliaia di composti. I migliori candidati saranno analizzati sperimentalmente.

Risultati. Durante il I anno del progetto abbiamo confermato l'efficacia del trattamento con kinetina in diversi sistemi cellulari. Abbiamo verificato che il trattamento è in grado di aumentare i livelli di mRNA wild type anche in cellule ottenute da brushing nasale da pazienti FC. Abbiamo esaminato l'efficacia di 3 composti simili alla kinetina, e, in un caso (la molecola si chiama RECTAS) abbiamo riscontrato una efficienza paragonabile a un dosaggio 10 volte inferiore. Infine, abbiamo studiato l'effetto della kinetina sull'insieme delle molecole di mRNA prodotte dalla cellula, in modo da valutare possibili effetti su altri geni.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. Molecole attive sullo splicing possono essere utilizzate per aumentare il livello di mRNA per CFTR che può quindi consentire la produzione di una maggiore quantità di proteina funzionante. Questi nuovi farmaci, chiamati "amplificatori", possono essere utili in combinazione con potenziatori e i correttori.

9. An RNA based approach based on ExSpeU1 for correction of CFTR splicing defects: analysis of efficacy in primary bronchial cells (*)

Pagani F

Centro Internazionale di Ingegneria Genetica e Biotecnologie - ICGB, Trieste, (FFC#5/2014, Completed)



Franco Pagani, titolare del progetto

In this project we have evaluated the efficacy and safety of a novel therapeutic approach based on modified U1snRNAs named Exon Specific U1s (ExSpeU1) in the correction of CFTR splicing defects in primary bronchial cells. The analysis was conducted on three splicing mutations 711+5G>A, 1898+3A>G and c.2657 +5G>A variants that affect respectively exons 5, 13 and 16. In vitro analysis with minigene assays identified for each mutation a panel of active ExSpeU1s. However a low ExSpeU1 correction efficacy for exon 13 and no expected mutation in 711+5G>A primary cells led us to focus specifically on the c.2657 +5G>A mutation associated to exon 16 skipping. Lentiviral-mediated delivery of ExSpeU1s molecules in FLIP IN cells that constitutively express a splicing competent cDNA showed that exon 16 splicing correction result in rescue of normal of CFTR protein. This results highlight the potential therapeutic efficacy of ExSpeU1s delivered by lentiviral vectors to correct the c.2657 +5G>A splicing mutation.

Un approccio basato su piccoli RNA per la correzione dei difetti di splicing del gene CFTR: analisi delle efficacia in cellule primarie bronchiali

In questo progetto abbiamo valutato l'efficacia e la sicurezza di un nuovo approccio terapeutico basato su U1snRNAs modificati denominati Exon Specific U1s (ExSpeU1) nella correzione di difetti di splicing del gene CFTR in cellule bronchiali primarie. L'analisi è stata condotta su tre mutazioni di splicing 711 + 5G> A, 1898 + 3A> G e c.2657 + 5G> A varianti che colpiscono rispettivamente gli esoni 5, 13 e 16. In vitro, sono state individuate per ogni mutazione un pannello di ExSpeU1s attivi. Tuttavia una analisi più approfondita sulla efficacia e sulla qualità delle cellule bronchiali disponibili ci hanno portato a concentrarsi in particolare sulla mutazione c.2657 + 5G> A che si associa ad un difetto di splicing a carico dell'esone 16. Attraverso la preparazione di vettori lentivirali è stato possibile veicolare le molecole di ExSpeU1s in cellule opportunamente modificate che riproducono il difetto di splicing dell'esone 16. In queste cellule i vettori lentivirali hanno dimostrato la correzione dello splicing dell'esone 16 ed un recupero della proteina CFTR normale. Questi risultati evidenziano il potenziale terapeutico di questo nuove molecole ad RNA in vettori lentivirali per correggere mutazioni di splicing.

10. Novel aminoarylthiazole derivatives as correctors of the chloride transport defect in cystic fibrosis: computer assisted drug design, synthesis and biological evaluation (*)

Liessi N¹, Cichero E², Pesce E³, D'Ursi P⁴, Salis A¹, Pedemonte N³, Damonte G^{1,5}, Galietta LJV³, Fossa P², Millo E^{1,5}

¹Center of Excellence for Biomedical Research (CEBR), University of Genoa, Genoa, Italy, ²Department of Pharmacy, Section of Medicinal Chemistry, University of Genoa, Genoa, Italy, ³Istituto Giannina Gaslini, Genoa, Italy, ⁴Institute for Biomedical Technologies e National Research Council (ITB-CNR), Segrate (MI), Italy, ⁵Department of Experimental Medicine, Section of Biochemistry, University of Genoa, Genoa, Italy. (FFC#7/2015, Completed)

Background. CF is caused by mutations that abolish the function of CFTR, a protein that is needed to transport chloride and bicarbonate across cell membrane in the epithelial cells. The most frequent mutation, F508del requires a specific pharmacological treatment. Such defects can be addressed with small molecules, known as correctors and potentiators. In previous studies, we identified a class of compounds called aminoarylthiazoles (AATs) that potentially correct the CF basic defect.



Enrico Millo, titolare del progetto

Hypothesis and objectives. The main objective of our project is to identify new AATs which could be efficiently able to correct the CFTR protein defect caused by F508del. By using an integrated approach (bioinformatics, chemical synthesis, and functional assays) we will aim at developing drug-like compounds with improved activity on mutant CFTR.

Essential methods. We have manually synthesized molecules called aminoarylthiazoles (AATs) according to the Hantzsch synthesis based on structural information arising from their possible binding site on CFTR protein. Using functional assays we will test the ability of novel AATs to recover the expression and activity of mutant CFTR.

Results. In the other hand, our previous data on AATs have revealed the possibility to develop correctors and/or potentiators compounds and some of them also show a strong synergic effect when combined with VX809. Notably, our studies allowed to better explore the structure-activity relationship exhibited within AATs and the reference corrector VX809, giving useful information pointing out the most relevant residues involved in the ligand binding. Lastly the results have provided novel information on AATs, and led to the identification of some molecules, with a particular ability to rescue ΔF508CFTR.

Spin-off for research and clinical purposes. Our findings reveal the possibility to generate libraries of molecules particularly suited for the potentiation of F508del-CFTR. Identification of candidate drugs for the correction of the basic defect in CF is of high relevance to develop treatments able to revert or arrest the progression of the disease.

Nuovi aminoarilitiazoli per la correzione del difetto di base nella fibrosi cistica: design, sintesi e valutazione biologica

Ragioni dello studio. La FC è causata da mutazioni che colpiscono CFTR, una proteina che è necessaria per il trasporto di cloruro e bicarbonato attraverso le membrane delle cellule. La mutazione FC più frequente, F508del, richiede un trattamento farmacologico con composti noti come correttori e potenziatori. Il difetto principale causato da F508del è costituito da un'instabilità della proteina CFTR che viene quindi degradata velocemente all'interno delle cellule. Il nostro obiettivo è l'identificazione di correttori farmacologici di F508del - CFTR.

Ipotesi e obiettivi. Il nostro progetto si è proposto di identificare nuovi composti chimici, appartenenti alla famiglia degli aminoarilitiazoli (AAT), che ha la capacità di correggere specificamente il difetto di maturazione della proteina CFTR causato da F508del, la mutazione più frequente tra i pazienti FC. Utilizzando diversi approcci (bioinformatica, sintesi chimica, saggi funzionali e biochimici) sono state, infatti, costruite tre differenti librerie di composti.

Metodi. Sono state sintetizzate manualmente molecole appartenenti alla famiglia degli AAT con metodica di Hantzsch

anche sulla base d'informazioni strutturali derivanti dal loro possibile sito di legame sulla proteina CFTR. Utilizzando saggi funzionali si è quindi valutata la capacità dei nuovi AAT di recuperare l'espressione e l'attività di CFTR mutata.

Risultati. Precedenti dati sugli AATs hanno rivelato la possibilità di sviluppare composti correttori e/o potenziatori alcuni dei quali hanno evidenziato un'azione sinergica con il VX 809. Sono state analizzate le differenze in termini d'interazioni che si verificano nel sito di legame di VX809 e degli AATs allo scopo di identificare quali residui concorrono a determinarne l'attività. Il nostro studio ha prodotto una SAR (relazione struttura-attività) su AATs che ha portato all'individuazione di molecole con un'importante attività correttrice di ΔF508CFTR. In seguito alle indicazioni ottenute dalla SAR di queste librerie, sono state apportate nuove modifiche e sono stati pianificati differenti composti da sintetizzare e testare.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. I nostri risultati rivelano la possibilità di generare librerie di molecole particolarmente adatte per il trattamento di F508del-CFTR. L'identificazione di farmaci candidati per la correzione del difetto di base in CF è di grande rilevanza per sviluppare trattamenti in grado di ripristinare o arrestare la progressione della malattia.

11. Identification and validation of novel molecules obtained by integrated computational and experimental approaches for the read-through of PTCs in CF cells (*)

Lentini L¹, Pibiri I¹, Melfi R¹, Tutone M¹, Pace A¹, Barone G¹, Di Leonardo A¹

¹Department of Biological, Chemical and Pharmaceutical Sciences and Technologies (STEBICEF), University of Palermo (FFC#1/2014, Completed)



Laura Lentini, a sinistra, e Ivana Pibiri, rispettivamente responsabile e partner del progetto

Background. Cystic Fibrosis patients with nonsense-mutation in the CFTR gene generally make virtually no CFTR protein and thus often have a more severe form of CF. Recently, Ataluren (formerly PTC124) was suggested to induce the read-through of premature termination codons (PTCs) mainly the UGA codon. However, despite promising results there is not a general consensus of Ataluren efficacy and mechanism of action.

Hypothesis and objectives. The design of new small molecules (PTC124 related) together with the understanding of their mechanism of action could lead to new pharmacologic approaches for the cure of CF caused by nonsense mutations in the CFTR gene. This project was aimed to evaluate the activity of some PTC124 analogues identified by a virtual screening, by different orthogonal assays with vectors containing PTCs in reporter genes and in CF bronchial epithelial cells.

Methods. Design and synthesis of the new PTC's read-through promoters was based on a virtual screening approach (1) and starting from the results obtained in our precedent study (2). We used the FLuc assay, the green fluorescent protein assay (GFP) and the IB3 cell line to test the new identified products (3-4). In order to understand their mechanism of action computational studies were done to model the interaction between the bioactive synthesized compounds and the cellular target.

Results. We synthesized 18 analogues of Ataluren (PTC124) and tested them in three different biological models. Ten of these new compounds showed high read-through capacity (unpublished results).

Spin off for research & clinical purposes. Identification of molecules displaying readthrough activity higher than Ataluren (PTC124). Understanding the mechanism of action of readthrough promoting molecules.

Identificazione e validazione di nuove molecole ottenute da studi computazionali e saggi biologici per il superamento di codoni di stop prematuri in cellule FC

Ragioni dello studio. Pazienti affetti fibrosi cistica che presentano mutazioni nonsenso nel gene CFTR non producono alcuna forma della proteina e in generale il loro quadro clinico comporta sintomi importanti di malattia. Ataluren (PTC124), una piccola molecola aromatica, è in grado di indurre il "readthrough" (superamento) dei codoni di stop prematuri e non di quelli normali. Ma nonostante i buoni risultati iniziali esistono molte controversie sull'effettiva efficacia di tale molecola e inoltre non se ne conosce il meccanismo d'azione.

Ipotesi e obiettivi. In uno studio precedente finanziato dalla Fondazione Fibrosi Cistica, abbiamo sintetizzato e identificato alcune molecole che sembrano mostrare una migliore attività di readthrough rispetto a quella dell'Ataluren (PTC124). Scopo di questo progetto è stato quello di cercare di implementare i dati ad oggi ottenuti e cercare di estenderli a sistemi modello cellulari di fibrosi cistica. Un ulteriore obiettivo del progetto è stato il design e la sintesi di nuove molecole ad azione readthrough. Infine, mediante studi computazionali si sta cercando di generare dei modelli d'interazione tra i composti bioattivi sintetizzati e il loro possibile bersaglio cellulare.

Metodi. La progettazione e la sintesi di nuove molecole analoghe all'Ataluren (PTC124) è stata fatta sulla base dei risultati ottenuti dal precedente progetto mediante uno screening virtuale su database pubblici e non. Per il test dei nuovi prodotti si è utilizzato il saggio con la luciferasi, affiancato da esperimenti condotti su sistemi modello cellulari contenenti codoni di stop prematuri. Infine sono stati condotti studi computazionali finalizzati a valutare l'interazione tra i composti bioattivi sintetizzati e il possibile bersaglio cellulare al fine di comprendere il possibile meccanismo d'azione di tali molecole.

Risultati preliminari. Abbiamo sintetizzato e saggiato 18 analoghi dell'Ataluren (PTC124) in tre diversi modelli biologici. Dieci di questi nuovi composti hanno mostrato elevata capacità di readthrough (superamento del codone di stop prematuro).

Possibili ricadute per ricerca e clinica. Sono state identificate molecole che mostrano un'elevata capacità di superamento del codone di stop prematuro presente nell'RNA messaggero codificante per la proteina CFTR, ed è stata formulata un'ipotesi sul meccanismo di azione di tali molecole.

12. The molecular structure and the folding of the whole Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR): corrector sites (*)

Satriano L¹, Cossu C¹, Baroni D¹, Zegarra-Moran O², Ford F³, Pollock N³, Moran O¹

¹Istituto di Biofisica, CNR, Genova, Italy, ²Unità Operativa di Genetica Medica, Istituto G. Gaslini, Genova, Italy, ³Faculty of Life Sciences, University of Manchester, Manchester, UK (FFC#4/2014, Completed)



Oscar Moran, titolare del progetto

Background and rationale. CFTR is an anionic channel expressed in epithelia whose mutations cause cystic fibrosis, but its structure is still unknown.

Hypothesis and objectives. We explored a set of structural parameters of the wild type and mutated (F508del) CFTR by physical methods.

Essential methods. WT and F508del CFTR were over-expressed in yeast, solubilised in the detergent LPG-14 and purified. The detergent-CFTR complexes were studied by SAXS techniques using a solvent of variable density.

Results. The final result of the study is the numerical value of a set of parameters: molecular mass, volume and radius of gyration, average electron density and second moment of the electron density fluctuations inside the particles. It is also shown that in the complex the centres of gravity of CFTR and of the detergent are displaced relative to each other. The analysis of these parameters led to the determination of the size and shape of the volumes occupied by protein and by detergent in the complex. WT-CFTR to be an elongated molecule (maximum diameter ~12.4nm) which spans a flat detergent micelle. The distance distribution function, $P(r)$, confirms that the WT-CFTR is elongated and with an inhomogeneous electronic density. The F508del-CFTR molecule is also elongated (maximum diameter ~13.2nm), but the associated detergent micelle hides a larger surface, plausibly related to an increased exposure of hydrophobic portions of the mutated protein. The corresponding $P(r)$ is consistent with the presence of well defined domains, probably linked by flexible regions.

Significance. These differences suggest that the full-length mutant F508del-CFTR has a detectably different conformation, in contrast to the minor differences observed for the isolated F508-containing domain. We interpret the data in terms of an incomplete post-translational assembly of the protein domains. It follows that the use of WT molecular models to find better corrector must be reconsidered.

La struttura molecolare e la ripiegatura della CFTR completa

Ragioni dello studio. La CFTR è un canale anionico espresso in epitelii cui mutazioni causano la fibrosi cistica, ma la sua struttura non è stata ancora risolta.

Ipotesi e obiettivi. Abbiamo determinato una serie di parametri strutturali della CFTR normale e mutata (F508del) mediante metodi fisici.

Risultati. La proteina normale (WT) e quella mutata (F508del) sono state sovra-espresso in lievito, solubilizzate nel detergente GPL-14 e purificate. I complessi detergente-CFTR sono stati studiati con tecniche di dispersione di raggi X a basso angolo (SAXS) in solvente di densità variabile. Il risultato finale dello studio è il valore numerico di un insieme di parametri: la massa molecolare, il volume e il raggio di girazione, la densità media dell'elettrone e il secondo momento delle fluttuazioni di densità elettronica all'interno delle particelle. Si è anche mostrato che i centri di gravità di CFTR e del detergente sono spostati uno rispetto all'altro. L'analisi di questi parametri ha portato alla determinazione della dimensione e forma dei volumi occupati da proteine e detergente nel complesso. WT-CFTR è una molecola allungata (diametro massimo ~12.4nm), che si estende su una micella di detergente. La funzione di distribuzione a distanza, P(r) conferma che il WT-CFTR è allungata e con una densità elettronica disomogenea. La molecola F508del-CFTR è anche allungata (diametro massimo ~13.2nm), ma la micella di detergente associata ricopre una superficie maggiore, plausibilmente correlata a una maggiore esposizione di porzioni idrofobiche della proteina mutata. La P(r) corrispondente è coerente con la presenza di domini ben definiti, probabilmente legati da regioni flessibili.

Significato. Queste differenze suggeriscono che la proteina mutante F508del-CFTR presenta una conformazione significativamente diversa rispetto a quanto osservato nel dominio isolato contenente la mutazione F508del. Interpretiamo i dati in termini di un ripiegamento post-traduzionale incompleto. Questi risultati aprono nuovi interrogativi sulla metodologia della ricerca di farmaci correttori.

13. A systems biology approach to the correction of Cystic Fibrosis: from building a network of proteostasis regulatory pathways to combinatorial targeting (*)

Luini A

Centro Nazionale Ricerche, Dip. di Scienze Biomediche, Istituto di Biochimica delle Proteine, Napoli (FFC#2/2014, Completed)



Alberto Luini, quinto da sinistra, e il suo gruppo di giovani ricercatori

Background. Cystic fibrosis (CF) is a frequent and lethal genetic disease caused by mutations associated with the CF transmembrane regulator (CFTR), a chloride channel located in the apical membrane of epithelial cells lining the ducts. In nearly 70% of the CF patients, the mutation involved is a deletion of phenylalanine at position 508 of the protein (DF-CFTR). The mutant protein cannot fold properly leading to its intracellular retention and degradation. Pharmacological screening approaches have identified small molecule "correc-

tors" (which promote a modest level of DF-CFTR arrival at the plasma membrane), some of which are in clinical trials. Unfortunately, their mode of action is not known.

Hypothesis and objectives. We proposed to develop a rational basis for the pharmacological correction of DF-CFTR defects, by characterizing the mechanism of action of correctors, to identify molecular components and pathways involved in the correction and then targeting them by efficient ways.

Methods. We developed a novel bioinformatic method that we termed Fuzzy intersection of transcriptomes (FIT) to identify genes that commonly regulated by a set of drugs. We used this method to identify genes that are modulated by many of the corrector drugs (we analyzed the transcription profiles of 23 corrector drugs) to achieve their corrective action. These genes were then validated experimentally for their action on regulating DF-CFTR proteostasis.

Results. By using the FIT algorithm on the transcriptional profiles of 23 corrector drugs we arrived a set of 621 genes (219 downregulated and 402 upregulated genes) that we termed correction-relevant (CORE) genes. Out of these we selected 108 genes (based on bioinformatic criteria) to validate experimentally. Of these genes we found 47 to be active in regulating DF-CFTR proteostasis. These 47 genes were then arranged into potential signaling pathways based on KEGG pathway and STRING database, resulting in 8 signaling pathways/networks. Of these we further characterized one pathway that had as the central component MLK3. The known upstream and downstream kinases of the MLK3 pathway were validated experimentally to arrive at the MLK3 pathway that controls the proteostasis of DF-CFTR. The mechanism of MLK3 action on DF-CFTR proteostasis was then analyzed and we found that MLK3 pathway controls the endoplasmic reticulum associated degradation of DF-CFTR and also the plasma membrane quality control of DF-CFTR. Additionally, small-molecule mediated inhibition of the MLK3 pathway was observed to potently rescue DF-CFTR and thus suggesting a potential pharmacological approach to the correction of DF-CFTR.

Spin-off for research and clinical purposes. A rational pharmacological basis of correction of DF-CFTR was developed and potential novel, efficient and specific small molecule reagents that correct the basic defect of DF-CFTR was identified.

Un approccio di system biology per la correzione della fibrosi cistica: dalla costruzione di un network dei pathway regolatori della proteostasi di CFTR all'approccio farmacologico combinatoriale

Ragioni dello studio. La Fibrosi Cistica (CF) è una malattia genetica rara e letale causata da mutazioni associate alla proteina (CFTR), localizzata sulla membrana apicale delle cellule epiteliali, la cui funzione è quella di regolare gli scambi dello ione cloro. In quasi il 70% dei pazienti la mutazione coinvolta è una delezione dell'amminoacido fenilalanina nella posizione 508 della proteina (DF-CFTR). La proteina mutata non riesce a ripiegarsi correttamente con conseguente ritenzione intracellulare della stessa e successiva degradazione. Approcci di screening farmacologici hanno portato all'identificazione di piccoli "composti correttori" (che promuovono l'arrivo di una modesta quantità di proteina DF-CFTR alla membrana plasmatica), alcuni dei quali sono in *clinical trials*. Sfortunatamente il loro meccanismo d'azione è ancora sconosciuto.

Ipotesi ed obiettivi. La nostra proposta è quella di individuare le basi razionali del trattamento farmacologico, per la correzione dei difetti associati alla DF-CFTR, mediante caratterizzazione del meccanismo d'azione di questi composti correttori. L'obiettivo è quello di rendere più specifico ed efficiente il loro utilizzo.

Metodi. Abbiamo sviluppato un innovativo approccio bioinformatico, denominato *Fuzzy intersection of transcriptomes (FIT)*, in grado di identificare quei geni la cui funzione è regolata da un gruppo di "composti". Mediante tale approccio abbiamo analizzato i profili trascrizionali di 23 composti correttori al fine di valutare la loro azione. Questi geni sono stati, in seguito, validati sperimentalmente per osservare la loro capacità nel regolare la proteostasi della DF-CFTR.

Risultati. Analizzando i profili trascrizionali dei 23 composti correttori, mediante l'algoritmo FIT, siamo arrivati ad un set di 621 geni (219 dei quali sono downregolati e gli altri 402 upregolati) che abbiamo denominato *geni rilevanti per la correzione* (CORE). Di questi abbiamo selezionato 108 geni (in base a criteri bioinformatici) per convalidarli sperimentalmente. Tra i 108 geni esaminati ne abbiamo trovato 47 che sono attivi nel regolare la proteostasi della DF-CFTR. Questi 47 geni sono stati organizzati in potenziali vie di trasduzione del segnale, basati sulla via di KEGG e sulla banca dati "STRING", portando all'individuazione di 8 vie/reti di trasduzione del

segnale. Di questi, abbiamo ulteriormente caratterizzato una via che ha come elemento centrale MLK3. Le protein-chinasie conosciute, che si trovano a monte e valle nella via di MLK3, sono state validate sperimentalmente per delineare l'*MLK3-pathway* che controlla la proteostasi della DF-CFTR. Abbiamo quindi analizzato il meccanismo d'azione della MLK3 sulla proteostasi ed abbiamo trovato che questa via controlla sia la degradazione della proteina DF-CFTR associata al reticolo endoplasmatico che la funzione "controllo-qualità" della stessa associata alla membrana plasmatica. In più l'inibizione della via di MLK3, mediante l'uso di piccole molecole, ha portato ad un forte recupero del fenotipo DF-CFTR suggerendo un potenziale approccio farmacologico nella correzione del difetto legato alla mutazione della proteina CFTR.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. Utilizzando i risultati ottenuti abbiamo trovato e fornito una spiegazione razionale alla base del trattamento farmacologico e infine identificato i composti che, in modo efficiente e specifico, siano in grado di correggere il difetto legato alla DF-CFTR.

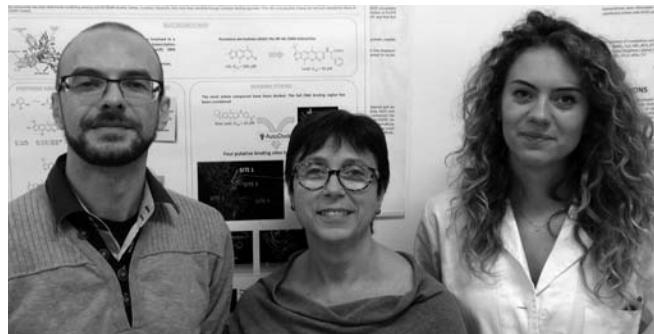
PARALLEL POSTER SESSION 1

Posters A – CFTR RESCUE

14. New generation trimethylangelicin (TMA) analogues for selective modulation of defective CFTR or inflammation

Chilin A

Dipartimento di Scienze Farmaceutiche e Farmacologiche,
Università di Padova (FFC#1/2016, New)



Adriana Chilin, al centro, con i collaboratori di laboratorio

Background and rationale. TMA (4,6,4'-trimethylangelicin) is a potentiator and corrector of mutated CFTR protein, with anti-inflammatory activity useful in CF lung disease. Concerns raised on the potential phototoxicity and mutagenicity of the parent TMA molecule opened a new pharmaceutical pipeline aimed to differentiate the three biological effects of TMA and exclude both the potential safety risks.

Hypothesis and Objectives. The major objective of the project is to synthesize and test new generation TMA analogues with selective and alternative biological effects (as F508del CFTR correctors, F508del CFTR potentiators or inflammatory down-modulators) without phototoxicity and mutagenicity. The newly synthesized compounds will allow deriving better structure-activity relationships on both the biological activities on inflammation and CFTR modulation depending on particular structural features on the TMA scaffold. These new findings will facilitate a personalized therapy according to the stage of progression of lung disease of each CF patient, providing the option of associating an anti-inflamm-

matory effect besides the key activity of rescuing and potentiating CFTR.

Essential methods. Starting from the two lead compounds recently identified, the project deals with the design, synthesis and biological evaluation of new optimized derivatives. The goals of the project can be outlined in 5 sections: 1) design and synthesis of new TMA analogues; 2) evaluation of the phototoxicity and mutagenicity; 3) test of the anti-inflammatory activity, 4) test of the effects as CFTR function modulation; 5) derivation of structure-activity relationships aimed at a full comprehension of the structural features required to obtain selective anti-inflammatory properties, selective CFTR modulatory properties and dual anti-inflammatory/CFTR modulatory activity.

Preliminary results. Recently, two lead compounds were identified (one exhibiting high CFTR correction activity and poor NF- κ B inhibition and one exhibiting good NF- κ B inhibition), thus demonstrating that anti-inflammatory, CFTR potentiator and CFTR corrector activities could be split in TMA analogues.

Expected results. Identification of novel candidates with improved anti-inflammatory and/or CFTR function modulating properties (and negligible phototoxicity) for pre-clinical studies.

Analoghi di trimetilangelicina (TMA) di nuova generazione come modulatori selettivi di CFTR o di infiammazione

Ragioni dello studio. TMA (4,6,4'-trimetilangelicina) è un potenziatore e correttore della proteina CFTR mutata, con attività antiinfiammatoria utile per fibrosi cistica, attivo a bassissime concentrazioni. Preoccupazioni riguardo a potenziale fotossicità e mutagenicità di TMA hanno dato il via alla ricerca di nuovi analoghi di TMA che presentino selettivamente una delle tre attività e siano privi dei potenziali effetti collaterali.

Ipotesi e obiettivi. L'obiettivo principale di questo progetto è la sintesi e lo studio di una nuova generazione di analoghi di TMA con effetti terapeutici selettivi (correttore CFTR, potenziatore CFTR, modulatore di infiammazione) e privi di fotossicità e mutagenicità. Attraverso i nuovi composti sarà possibile ottenere migliori informazioni sulle caratteristiche

strutturali di TMA cruciali per l'azione antiinfiammatoria e/o modulatoria di CFTR, sia per dimostrare la possibilità di separare le diverse attività, sia per consentire una terapia personalizzata a seconda dello stato di progressione della patologia (con molecole fornite o prive di attività antiinfiammatoria, oltre all'effetto correttore o potenziatore di CFTR).

Metodi essenziali. Partendo dai due prototipi identificati, il progetto prevede la progettazione, la sintesi e la valutazione dell'attività biologica di derivati di nuova generazione. In particolare, gli obiettivi saranno articolati in 5 fasi: 1) progettazione e sintesi di nuovi analoghi di TMA; 2) analisi di fototoxicità e mutagenicità; 3) test dell'azione antiinfiammatoria; 4) test degli effetti sulla modulazione di CFTR; 5) definizione di relazioni struttura-attività per capire i requisiti strutturali necessari ad ottenere selettivamente proprietà antiinfiammatorie, proprietà modulatorie di CFTR o attività duali anti-infiammatoria/modulatrice di CFTR.

Risultati preliminari. Recentemente sono stati identificati due composti "prototipi" (uno con elevata attività di correttore CFTR e scarsa inibizione di NF- κ B e uno con buona attività inibitoria di NF- κ B), consentendo di dimostrare che le attività antiinfiammatoria, di potenziatore e correttore CFTR possono essere ottenute selettivamente in molecole diverse, sebbene tutte rappresentate da analoghi di TMA.

Risultati attesi. Identificazione di nuove molecole con migliore attività antiinfiammatoria e/o di correzione della funzione CFTR, ma con trascurabile fototoxicità e mutagenicità, da utilizzare in studi preclinici.

15. Alternative strategies for F508delCFTR repair: novel targets for drug discovery approach in cystic fibrosis

Cozza G^{1,2}, Tosco A³, Villella V³, Esposito S¹, Venerando A⁴, Pinna LA⁴, Raia V³, Maiuri L¹

¹ European Institute for Research in Cystic Fibrosis (IERFC), San Raffaele Institute, Milan, Italy, ² Department of Molecular Medicine, University of Padua, Padua, Italy, ³ Department of Translational medical sciences, University of Naples Federico II, Regional Cystic Fibrosis Care Unit, Naples, Italy, ⁴ Department of Biomedical Sciences, and CNR, Institute of Neuroscience, University of Padua, Padua, Italy (FFC#2/2016, New)



Giorgio Cozza, primo a sinistra, con i collaboratori che lavorano al progetto e Antonella Tosco, al centro, con le colleghi di ricerca

Background and Rationale. Cystic Fibrosis (CF) is a life-shortening genetic disorder, caused by mutations of Cystic Fibrosis Transmembrane-conductance Regulator (CFTR). Currently, no CFTR-repairing therapies are available for the most common F508delCFTR mutant that is unable to traffic to and reside at the plasma membrane (PM). Our novel approach aims at targeting the derailed CF intracellular environment, instead of directly targeting mutant CFTR, through a combination of drugs (e.g. cisteamine and epigallocatechin-gallate, EGCG) able to inhibit TG2 activities and specific protein kinases.

Hypothesis and Objectives. We aim to 1) Refine new tar-

gets as novel therapeutic strategy in CF by exploiting a network of *in silico* and experimental approaches; 2) Validate the efficacy of novel drug candidates in pre-clinical CF models.

Essential Methods. We will use: A) *in silico* approaches to identify novel chemical entities able to interact with our new protein targets; B) *in vitro* and *in cell* methodologies to validate the best candidates from (A); C) *in vivo* validation into appropriate mouse models.

Preliminary results. The combination of the TG2 inhibitor cisteamine (that restores disabled autophagy) and the kinase inhibitor EGCG has shown very promising results in either rescuing and/or stabilizing F508delCFTR at PM. A pilot clinical study in F508delCFTR homozygous CF patients treated with cisteamine/EGCG led to decrease sweat chloride concentrations by > 20%, increase autophagy flux and reduce lung inflammation.

Expected results and their significance. The current CFTR-repairing therapeutic strategies, aimed at directly targeting F508delCFTR, are poorly effective in restoring CFTR function in patients bearing F508delCFTR mutant [2]. Our combined (cisteamine/EGCG) approach restores and stabilizes a functional F508delCFTR at PM, both in preclinical and in clinical studies, thus exploiting novel protein targets for CFTR repair. These new targets represent a novel starting point for a new generation of molecules putatively effective for the treatment of F508delCFTR patients. We expect to retrieve a novel set of drug candidates for the treatment of CF. These molecules will be characterized by a consistent *in cell* and *in vivo* potency, as well as by preliminary safety profiles. Noteworthy, from a pilot *in silico* analysis one new molecule has been validated to be 100 fold more potent than cisteamine.

Strategie alternative per il ripristino funzionale di CFTR-F508del: nuovi target per lo sviluppo di farmaci contro la fibrosi cistica

Ragioni dello studio. La Fibrosi Cistica (FC) è una malattia genetica a prognosi infastidiosa, causata da mutazioni della proteina CFTR. Attualmente non esistono terapie per la mutazione più comune F508delCFTR, in cui la proteina non è in grado di spostarsi e mantenersi a livello della membrana plasmatica (MP). Il nostro nuovo approccio mira a migliorare il compartimento intracellulare che causa la bassa espressione del CFTR sulla superficie cellulare invece di colpire direttamente la CFTR mutata, attraverso la combinazione di farmaci (es. cisteamina e EGCG) in grado di inibire l'attività di TG2 e specifiche proteine chinasi.

Ipotesi e obiettivi. 1) definire nuovi target terapeutici nella FC utilizzando un network di approcci computazionali e sperimentali. 2) Validare l'efficacia dei nuovi candidati farmaci in modelli FC preclinici.

Metodi essenziali. A) Approcci computazionali per identificare nuove molecole capaci di interagire con i nuovi target proteici. B) Metodologie *in vitro* e *in cellule* per validare i migliori candidati del punto A). C) Validazione *in vivo* in appropriati modelli murini.

Risultati preliminari. La combinazione dell'inibitore di TG2 cisteamina (in grado di ripristinare l'autofagia) e dell'inibitore di chinasi EGCG si è dimostrata molto promettente nel recupero e stabilizzazione del F508delCFTR sulla MP. Uno studio clinico pilota in pazienti F508delCFTR omozigoti trattati con cisteamina/EGCG ha portato ad incoraggianti risultati, attivando l'autofagia e riducendo l'infiammazione polmonare.

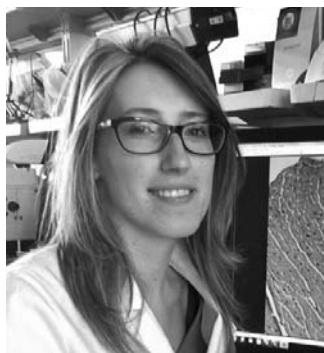
Risultati attesi e loro significato. L'attuale terapia contro la FC che mira a colpire direttamente l'F508delCFTR, si è dimostrata scarsamente efficace nel recuperare la funzione del CFTR in pazienti affetti. Il nostro approccio combinato (cisteamina/EGCG) recupera e stabilizza la funzione del F508delCFTR sulla MP in studi preclinici e clinici, mirando a

nuovi target proteici. Questi ultimi rappresentano un nuovo punto di partenza per lo sviluppo di una nuova generazione di molecole efficaci nel trattamento del F508delCFTR. Ci aspettiamo di sviluppare una nuova famiglia di candidati farmaci per il trattamento della FC, caratterizzati da una consistente attività in cellule e in vivo e scarsa tossicità. Da notare che l'approccio computazionale ha già individuato una nuova molecola 100 volte più potente della cisteamina.

16. Development of a PI3K γ -derived peptide as a novel F508del-CFTR potenziatore

Ghigo A

Dipartimento di Biotecnologia Molecolare e Scienze della Salute, Università di Torino (FFC#4/2016, New)



Alessandra Ghigo, titolare del progetto di ricerca

Background and Rationale. The underlying cause of cystic fibrosis (CF) is a mutation in the gene encoding the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR), a cyclic AMP (cAMP)-stimulated chloride channel. A number of CFTR correctors and potentiators, restoring membrane expression and cAMP-mediated activation of the channel, have been developed, but their efficacy in vivo is unsatisfactory.

Hypothesis and Objectives. The ultimate goal of this project is to validate a novel therapeutic strategy in the treatment of CF. In particular, we will develop a peptide-based drug, targeting the kinase-independent activity of PI3K γ (Aim 1) and we will validate its therapeutic potential in CF models (Aim 2).

Preliminary results. Our preliminary data identify PI3K γ as a key component of the CFTR macromolecular complex, and uncover a previously undescribed role for the kinase-independent function of PI3K γ in the control of cAMP-mediated activation of CFTR. We show that a cell-permeable peptide targeting PI3K γ scaffold function (Patent N° PCT/IB2015/059880 - WO/2016/103176) potentiates a localized pool of cAMP and, unlike the clinically advanced CFTR potentiator VX-770, stimulates chloride conductance of the most prevalent mutant CFTR, F508del, without interfering with channel stability.

Essential methods. Here, we intend to optimize our peptide lead and to synthesize a molecule which recapitulates the biological features of the parent PI3K γ -derived Trojan peptide, but shows a more appropriate pharmacokinetic profile for CF therapy. We will exploit different strategies of chemical optimization (e.g. identification of the minimum active sequence, residue substitution with unnatural aminoacid etc...) and we will explore the therapeutic potential of newly optimized and synthesized peptide derivatives, in primary bronchial epithelial cells and in intestinal organoids from F508del carriers.

Expected results and their significance. We expect to validate a peptide molecule targeting PI3K γ scaffold function as

a novel and more effective CFTR potentiator for CF therapy. Overall, the results of this work will pave the way to an aerosol therapy with this new, effective peptide potentiator, for the treatment of the vast majority of CF patients, including, but not limited, to those carrying the F508del mutation.

Sviluppo di un nuovo efficace potenziatore del CFTR che colpisce l'enzima PI3K γ

Ragioni dello studio. La causa della fibrosi cistica (FC) è il malfunzionamento di un canale del cloro espresso nelle cellule epiteliali, chiamato regolatore della conduttanza transmembrana della fibrosi cistica (CFTR). Un certo numero di molecole che correggono e potenziano l'attività del canale difettoso sono state sviluppate, ma la loro efficacia è insoddisfacente.

Ipotesi e obiettivi. L'ipotesi fondante di questo progetto è che l'enzima fosfoinositide 3-chinasi (PI3K) è un importante regolatore del canale CFTR. Gli obiettivi di questo progetto sono pertanto di 1) sviluppare un farmaco che bersaglia l'attività dell'enzima PI3K e 2) validare la sua efficacia terapeutica in modelli cellulari di FC.

Risultati preliminari. Il progetto si basa sui nostri dati preliminari che mostrano come PI3K leggi il canale CFTR normale e mutato (F508del), e ne regoli negativamente l'attività. Abbiamo progettato e brevettato una peptide che colpisce selettivamente questa funzione dell'enzima PI3K (Brevetto n° PCT/IB2015/059880 - WO/2016/103176), e che stimola l'attività del canale in maniera più efficace del potenziatore standard VX-770.

Metodi essenziali. In questo progetto intendiamo ottimizzare questa molecola peptidica in modo da ottenere un farmaco che possieda le caratteristiche farmacocinetiche più adeguate per la somministrazione ai pazienti FC. A questo scopo, utilizzeremo delle tecniche di chimica medicinale (accorciamento del peptide, sostituzione amminoacidi etc.), e valuteremo l'efficacia del nuovo composto in cellule primarie epiteliali bronchiali e in organoidi intestinali con mutazione F508del.

Risultati attesi e loro significato. Ci aspettiamo di sviluppare un farmaco peptidico che colpisce l'enzima PI3K γ e che sia più efficace dei potenziatori standard per la terapia FC. In particolare, i risultati di questo lavoro apriranno la strada a una nuova aerosolterapia con questo potenziatore per il trattamento della maggioranza dei pazienti affetti da FC, che portano la mutazione F508del.

17. Implementation of a new imaged-controlled sweat test for in vivo quantification of CFTR function: value for diagnosis and efficacy of new therapies

Leal T¹, Thao NK², Bergamini G³, Calcaterra E³, Sorio E³, Sermet I², Hatton A², Fajac I⁴, Ceri S⁵, Sorio C³, Bianchi F⁵, Masciadri A⁵, Melotti P⁶

¹Louvain Centre for Toxicology and Applied Pharmacology (LTAP), Université catholique de Louvain, Brussels, Belgium,

²Necker-Enfants Malades Hospital, Paris-France, ³Dept. of Medicine, General Pathology Section, University of Verona, Verona, Italy, ⁴Hôpital Cochin, Paris, France, ⁵Dept. of Electronics, Computer Science and Engineering and Bioengineering, Milano, Italy, ⁶CF Center, Azienda Ospedaliera Università Integrata di Verona, Verona, Italy (FFC#5/2016, New)

Background. Sweat production is controlled by both cholinergic and β -adrenergic pathways in the sweat gland secretory coil. CFTR function was measured in vivo by Wine et al, (PLOS ONE 2013 and 2014) by computing a ratio between



Teresinha Leal, titolare del progetto di ricerca

CFTR-independent (M-sweat, stimulated by methacholine) and CFTR-dependent (C-sweat, induced by a beta-adrenergic cocktail) sweat secretion rates by multiple individual glands in a series of subjects.

Hypothesis and objectives. We have been focusing on developing a simplified method suitable for implementation in multicentre studies and possibly for supporting controversial diagnosis and on setting up the method in Brussels and Paris. The project aims to compare this test with another innovative sweat test performed by evaporimetry and to test patients enrolled in Ataluren (PTC124) clinical trials.

Material, patients, methods. We adapted the published procedure in order to obtain commercial availability of instruments, reproducibility of image analysis and cost reduction. Secretion rates were given by changes of volume of sweat drops secreted in an oil layer, including the presence of a water-soluble blue dye for the C-sweat. We utilized this dye for both M and C phases in order to facilitate image analysis and simplify the equipment. Considering the results of the above cited study we estimated an appropriate sample size for detecting significant differences among CF, non-CF and carriers.

Expected results and spin-off. The project will include four consecutive steps. CF, HTZ and non CF subjects were also tested in Brussels and Paris. The results of evaporimetry versus imaged sweat tests performed in the same subjects on the same day will be compared. Next, its discriminating power will be approached testing patients with non classical CF forms of the disease. Finally it will be developed a software for automatic image analysis in order to improve reproducibility of this test. This project aims to innovatively explore the potentialities of the new sweat bubble test for the diagnosis of atypical cases regularly attending the CFC of Verona and for managing efficacy of new CF therapies as Ataluren in patients enrolled in clinical trials.

Realizzazione di un nuovo test del sudore video-controllato per la misurazione della funzione del canale CFTR: importanza per definire diagnosi ed efficacia di nuove terapie

Ragioni del progetto. La produzione di sudore nel tubulo secretorio delle ghiandole sudoripare è indotta sia da stimoli colinergici che β -adrenergici. La funzione di CFTR è stata misurata in vivo da Wine et al, (PLOS ONE 2013 e 2014) calcolando un rapporto tra CFTR-indipendente (M-sudore, stimolato da metacolina) e CFTR-dipendente (C-sudore, indotto da un cocktail di farmaci β -adrenergici) sudore secreto da singole ghiandole in una serie di soggetti.

Obiettivi principali. Gli scopi del progetto sono sia sviluppare un metodo di visualizzazione e misurazione del sudore semplificato adatto per la realizzazione di studi multicentrici e, eventualmente, per supportare le diagnosi controverse che impostare tale metodo a Bruxelles e a Parigi. Il progetto mira a confrontare questo test con un altro test del sudore innovativo eseguito mediante evaporimetro e a testare i pazienti arruolati nella sperimentazione clinica dell'Ataluren.

Materiale, pazienti, metodi. Abbiamo adattato la procedura pubblicata al fine di ottenere la disponibilità commerciale della strumentazione, la riproducibilità di analisi delle immagini e la riduzione dei costi. La velocità di secrezione è calcolata in base all' aumento di volume di gocce di sudore in uno strato di olio in cui è presente un colorante blu idrosolubile per il sudore secreto in fase C. Abbiamo utilizzato questo colorante per entrambe le fasi M e C per facilitare l'analisi delle immagini e semplificare l'apparecchiatura. Considerando i risultati dello studio sopra citato si è stimato un campione adeguato per rilevare differenze significative tra FC, non FC e portatori sani (HTZ).

Disegno dello studio e risultati attesi. Il progetto prevede quattro fasi consecutive. FC, HTZ e soggetti non FC saranno stati testati anche a Bruxelles e a Parigi. I risultati dei due test (evaporimetro e test sudore ideato da Wine et al) eseguiti negli stessi soggetti nello stesso giorno verranno confrontati. Successivamente, il potere discriminante di questo test sarà testato in pazienti con forme non classiche FC. Infine sarà sviluppato un software per l'analisi automatica delle immagini per migliorare la riproducibilità del test.

Possibili ricadute. Questo progetto si propone di esplo- rare in modo innovativo le potenzialità del nuovo test del sudore di Wine et al per la diagnosi dei casi atipici che frequentano regolarmente il CFC di Verona e per la valutazione dell'efficacia di nuove terapie FC come Ataluren in pazienti arruolati in studi clinici.

18. Understanding the mode of action of regulatory pathways controlling F508del-CFTR proteostasis and developing drugs that rescue F508del-CFTR by targeting these pathways synergistically

Luini A

Dipartimento Scienze Biomediche, Istituto di Biochimica delle proteine, CNR, Napoli (FFC#6/2016, New)



Alberto Luini, titolare del progetto di ricerca

Background/Rationale. Cystic fibrosis (CF) is caused by mutations in CF transmembrane conductance regulator (CFTR), a chloride channel located in the apical membrane of epithelial cells. Majority of the patients have the F508del mutation, a deletion of phenylalanine at position 508 of the protein. This mutant protein cannot fold properly leading to its intracellular degradation. We had recently described proteostatic regulators, including kinase-signalling pathways, that when modulated alone or in synergistic combinations potently rescue the mutant protein. The mode of action of these regulators is not known and if understood will provide insights into the pathology and also targets to control F508del-CFTR proteostasis.

Hypothesis and objectives. Here we propose to understand how these regulators act and to identify small molecules inhibitors of these regulators that capture their synergistic interactions to develop them into effective therapeutic treatment for CF.

Essential methods. 1) We will use transcriptional profiling (microarrays or RNA-seq) and phosphoproteomic profiling (antibody microarrays) under conditions when the proteostatic modulators are downregulated to understand the molecular changes that can be correlated with the rescue of F508del-CFTR. 2) We will identify appropriate small molecules or combinations of them that regulate the synergistically acting proteostatic modulators and rescue F508del-CFTR in model systems (months 1-12) and also in the primary human bronchial epithelial cells.

Preliminary results. We first concentrated on two very effective regulators of F508del-CFTR proteostasis that we had identified, MLK3 kinase cascade and an ubiquitin ligase RNF215. Transcriptional profiling of cells after modulation of MLK3 pathway showed that one of the targets of this pathway is INSIG-1, a regulator of cholesterol homeostasis and endoplasmic reticulum associated degradation of proteins. Our results show that INSIG-1 regulates F508del-CFTR degradation. RNF215 binds to F508del-CFTR and targets it to degradation.

Expected results and their significance. These analyses will provide insights into CF pathology; provide specific targets to control F508del-CFTR proteostasis and also efficient small molecules regulators that can rescue F508del-CFTR. The approach precisely encapsulates the mission of CF foundation to develop innovative pharmacological approaches to correct or compensate the deficiency of functional CFTR.

Comprendere il meccanismo d'azione delle vie regolatorie che controllano la proteostasi della F508del-CFTR e sviluppare farmaci in grado di correggere il difetto della F508del-CFTR attraverso un'azione sinergica sulle suddette vie.

Ragioni dello studio. La fibrosi cistica è la malattia genetica più diffusa tra i Caucasici. La maggior parte dei pazienti produce una forma mutata della proteina CFTR, la cui funzione è quella di trasportare sali, che non è in grado di ripiegarsi correttamente per cui rimane intrappolata nella cellula e viene degradata. La perdita della funzione della proteina CFTR ha come conseguenza il successivo sviluppo della malattia. Noi abbiamo recentemente individuato degli enzimi, chiamati "regolatori della proteostasi", che quando sono inibiti permettono alla proteina CFTR mutata di sfuggire alla degradazione e ripristinare la funzione della proteina stessa. Il meccanismo mediante il quale i regolatori proteggono la proteina mutata non è ancora noto, ma se compreso ci permetterà di trovare dei farmaci più specifici.

Ipotesi e obiettivi. Qui noi proponiamo di comprendere come questi regolatori agiscano e di identificare piccole molecole efficaci nell'inibire i regolatori, al fine di proteggere la proteina mutata e permetterne il recupero della sua funzione.

Metodi essenziali. Useremo metodi all'avanguardia di trascrittormica e proteomica per comprendere come questi regolatori agiscano. Le piccole molecole identificate nell'inibire questi regolatori saranno prima testate su linee cellulari usate comunemente in laboratorio e poi saranno validate su cellule derivate dai pazienti.

Risultati preliminari. In primo luogo abbiamo concentrato la nostra attenzione su due regolatori molto efficaci da noi identificati della proteostasi di F508del-CFTR, MLK3 una chinasi che agisce cascata e RNF215 un'ubiquitina ligasi. Il profilo trascrizionale di cellule dopo la modulazione del pathway di MLK3 ha mostrato che uno dei target di questo pathway è INSIG-1, un regolatore dell'omeostasi del colesterolo e della degradazione di proteine associate al reticolo

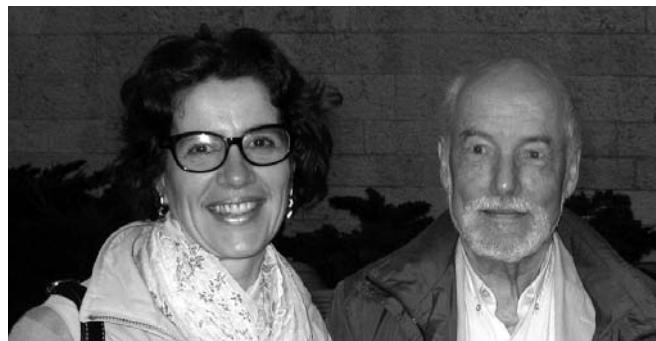
endoplasmatico. I nostri risultati mostrano che INSIG-1 regola la degradazione F508del-CFTR. RNF215 si lega a F508del-CFTR e la marca per essere portata alla degradazione.

Risultati attesi e loro significato. Con questo studio si vuole riempire una grande lacuna nella gamma di terapie disponibili per la Fibrosi Cistica. La nostra idea è di sviluppare nuovi, specifici ed efficienti farmaci che colpiscono il difetto di base della Fibrosi Cistica per il quale non è ancora disponibile alcun trattamento efficace. L'approccio usato è nuovo e può essere applicato a molte altre malattie. Inoltre i nuovi e principali composti che identificheremo avranno un grande potenziale nello sviluppo di spin-offs industriali.

19. Human intestinal organoids for detecting CFTR rescue molecules in human plasma

Melotti P, de Jonge H

Centro Fibrosi Cistica, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona (FFC#7/2016, New)



Paola Melotti, a sinistra, con il principale collaboratore esterno Hugo de Jonge (Rotterdam)

Background and rationale. Drugs acting on specific mutations in the CF causing gene (CFTR) are available for clinical trials, and now also for therapy of CF.

Hypothesis and objectives. To understand the variability of response between CF patients the levels of active drug circulating in their plasma will be evaluated in individual patients: it can be identified as due to the swelling of organoids human intestinal, structures that are derived from the intestinal mucosa and can remain available in the laboratory for long periods.

Essential methods. We will test drugs active on specific mutations in the CFTR gene present in the plasma of CF patients during their treatment with Ataluren (PTC124) or during therapy with Ivacaftor (VX-770, Kalydeco) or the combination of Ivacaftor and Lumacaftor (VX-770 and VX-809, Orkambi). These CFTR activating molecules induce organoids swelling, whose volume changes during the tests will reveal levels of active circulating drug. Initially known doses of drug will be added in the laboratory to human plasma samples of non-CF volunteers to set up the method in easily reproducible conditions: their effect on swelling of organoids will be compared with that of plasma of CF patients during treatment.

Preliminary results. It is well known that many drugs in the circulation may be inactivated by plasma proteins present more or less depending on various nutritional, infectious, inflammatory conditions consistently with variability in response to the same drug in different patients.

Expected results and their significance. We aim to identify patients' circulating effective drug levels, with possible future perspective of adapting the dose or treatment choice. In fact, different molecules or combinations of molecules are proved to be able to recover the function of CFTR that allows improvement or stabilization of clinical conditions. The personalization of care would find support in this organoids model, even more

appropriate when the plasma is tested in organoids derived from rectal biopsies from the same patient, obtained by procedure little disturbing, not painful. The model of organoids would thus be fully exploited for drug development, prediction of clinical response, monitoring of established therapies in individual patients, the diagnosis of atypical forms, greater understanding of the consequences of different molecular defects (mutations) in the CF causing gene.

Organoidi intestinali umani per identificare il recupero di CFTR da molecole attive su mutazioni di CFTR in campioni di plasma umano

Ragioni dello studio. Sono disponibili per sperimentazione clinica, ed ormai anche per terapia della FC, farmaci attivi su determinate mutazioni del gene CFTR.

Ipotesi e obiettivi. Per comprendere la variabilità di risposta tra i pazienti FC si valuteranno in singoli pazienti i livelli di farmaco attivo circolante nel loro plasma. L'attività del farmaco può essere identificata poiché causa il rigonfiamento di organoidi intestinali umani, strutture che derivano da mucosa intestinale e possono restare a disposizione in laboratorio per lunghi periodi.

Metodi essenziali. Verranno testati farmaci attivi su specifiche mutazioni del gene CFTR presenti nel plasma di pazienti FC durante il trattamento con Ataluren (PTC124) o con Ivacaftor (VX-770, Kalydeco) o con combinazione di Ivacaftor e Lumacaftor (VX-770 e VX-809, Orkambi). Queste molecole, attivando CFTR, fanno rigonfiare gli organoidi, le cui variazioni di volume nei test rivelano quindi i livelli di farmaco attivo circolante. Dapprima dosi note di farmaco verranno aggiunte in laboratorio a campioni di plasma umano di volontari non-CF per allestire il metodo nelle condizioni più facilmente riproducibili: il loro effetto rigonfiante sugli organoidi verrà confrontato con quello del plasma di pazienti FC in corso di trattamento.

Risultati preliminari. È noto che molti farmaci in circolo possono essere inattivati da proteine del plasma più o meno rappresentate a seconda di varie condizioni nutrizionali, infettive, infiammatorie. Cioè espone a variabilità di risposta allo stesso farmaco tra pazienti diversi.

Risultati attesi e loro significato. L'obiettivo è capire in quali pazienti il farmaco raggiunge livelli circolanti efficaci, così da poter adeguare il dosaggio o la scelta terapeutica. Infatti diverse molecole o combinazioni di molecole si stanno rivelando in grado di recuperare la funzione di CFTR che permette miglioramento o stabilizzazione clinica. La personalizzazione delle cure troverebbe supporto in questo modello di organoidi, ancor più appropriato quando il plasma viene testato in organoidi derivati da biopsie rettali dello stesso paziente, ottenute con procedura poco disturbante, non dolorosa. Il modello degli organoidi verrebbe così sfruttato completamente per sviluppo di nuovi farmaci, previsione della risposta clinica, monitoraggio delle terapie instaurate nei singoli pazienti, diagnosi di forme atipiche, maggior comprensione delle conseguenze di diversi difetti molecolari (mutazioni) nel gene della fibrosi cistica (CFTR).

20. Identification of the binding sites of CFTR correctors

Moran O

Istituto di Biofisica, CNR, Genova (FFC#8/2016, New)

Background and rationale. Cystic fibrosis (CF) is caused by dysfunction of the Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator (CFTR), a cAMP-regulated anion channel that resides in the apical membrane of epithelial cells. CFTR



Oscar Moran con le collaboratrici di ricerca

dysfunction can occur by defects in protein synthesis, folding, intracellular trafficking, channel gating, conductance, or plasma membrane stability. In each case, loss of CFTR results in abnormalities of water, chloride, and bicarbonate transport that lead to dysfunction of target tissues. In the Caucasian population, the deletion of phenylalanine at position 508 of the protein (F508del) is the mutation with the greatest frequency. It causes errors in the folding and trafficking of the protein, determining the lack of expression of functional CFTR in the plasma membrane. In recent years a group of molecules designated as correctors demonstrated able to rescue the structural defects of the CFTR-F508del, partially increasing its expression in the plasma membrane.

Hypothesis and objectives. Despite the encouraging drug discovery results, to date no corrector mechanism of action has been entirely resolved and no clear corrector binding site has been defined. For this reason the principal aim of this project is addressed to the identification of the F508del- CFTR domains that bind the correctors. The study of the differences in the corrector binding to F508del-and WT-CFTR will provide new structural insights into the mechanisms that cause the F508del-CFTR miss-assembly. We will also analyse the additive and synergistic effects of combination of correctors that bind in different CFTR regions.

Essential methods. To achieve results we plan to use complementary biochemical methods such as protein cross-linking and limited proteolysis experiments on samples coming from mammalian cells transfected either with WT and F508del whole molecules or single or multiple protein domains.

Preliminary results. We have demonstrated that WT and F508del CFTR have different conformations, and therefore any rational drug design or *in silico* docking attempt to find novel and better correctors cannot be based on the WT CFTR molecular model.

Expected results and their significance. We are confident that our results will contribute to make a step forward toward the rational design of more efficient CFTR correctors and to better understand the pathophysiology of the basic defect of the $\Delta F508$ -CFTR protein.

Difetti di assemblaggio della proteina CFTR-F508del mutata; meccanismi di recupero dell'espressione della proteina CFTR-F508del mutata; correttori e siti di legame dei correttori

Ragioni dello studio. La fibrosi cistica (FC) è causata da mutazioni della proteina CFTR, un canale anionico sito nella membrana apicale delle cellule epiteliali. Tali mutazioni possono causare difetti nella sintesi, nel ripiegamento o nel traffico della proteina, o modifiche del funzionamento del canale. In ogni caso, il non corretto funzionamento della proteina conduce ad anomalie del trasporto di acqua, cloruro e bicarbonato che determinano il deterioramento di molti organi. La delezione della fenilalanina in posizione 508 della proteina (F508del) è la mutazione con la maggior frequenza nella popo-

polazione caucasica. Essa causa errori nel ripiegamento e nel trasporto della CFTR, che ne determinano la mancata espressione sulla membrana plasmatica. Negli ultimi anni sono stati identificati alcuni correttori capaci di rimediare i difetti strutturali della CFTR- F508del, aumentandone parzialmente l'espressione a livello della membrana plasmatica.

Ipotesi e obiettivi. Nonostante gli incoraggianti risultati della ricerca scientifica, non si conosce né il meccanismo d'azione né il sito di legame dei correttori finora identificati. Lo scopo principale di questo progetto è quello di identificare i domini della CFTR- 508del coinvolti nell'interazione con i correttori. Lo studio delle differenze del legame dei correttori alla CFTR nativa o mutante ci permetterà di far luce sulle cause dell'errato ripiegamento della proteina mutata. Analizzeremo inoltre gli effetti additivi e sinergici di diverse combinazioni di correttori aventi siti di legame diversi sulla CFTR.

Metodi essenziali. Per raggiungere gli obiettivi proposti, useremo esperimenti di biochimica e biologia molecolare, come il cross-linking e la proteolisi limitata, su campioni provenienti da cellule di mammifero trasfettate con cDNA codificante le proteine CFTR nativa e mutata o con porzioni comprendenti uno o più domini delle due isoforme.

Risultati preliminari. Gli studi compiuti dal nostro gruppo negli anni precedenti, hanno dimostrato che la CFTR WT e F508del hanno diverse conformazioni, e quindi la progettazione di nuovi farmaci e lo studio in silico del loro docking non può esimersi da considerare tali differenze tra le due proteine.

Risultati attesi e loro significato. Siamo certi che i risultati che otterremo forniranno informazioni utili sia per il disegno di nuovi e più efficaci correttori, sia per una maggiore comprensione dei difetti strutturali della CFTR-F508del che causano la malattia.

21. Modulation of protein kinases in the regulation of chaperone machinery leading F508del-CFTR fate

Vilardell J¹, Borgo C¹, Gray M², Venerando A¹, Salvi M¹

¹Department of Biomedical Sciences, University of Padova, Padova, Italy, ²Epithelial Research Group, Institute for Cell and Molecular Biosciences, University Medical School, Newcastle University, Framlington Place, Newcastle upon Tyne, NE2 4HH, UK (FFC#10/2016, New)



Mauro Salvi, primo da sinistra, con i colleghi di laboratorio

Background/Rationale. Deletion of phenylalanine at position 508 in CFTR (F508del) is present in 70-90% of Cystic Fibrosis (CF) patients. F508delCFTR maintains channel activity, but the mutation causes the majority of CFTR protein to be retained in the endoplasmic reticulum with premature degradation by the ubiquitin-proteasome system. F508delCFTR can be rescued to plasma membrane by corrector molecules, but a therapy to increments its stability seems to be a challenge

ing issue for the therapeutic treatment of CF. CK2 inhibition promotes accumulation of CFTR band B, although it is not sufficient to support its maturation to band C. Nevertheless inhibition of CK2 has been suggested as a potential new tool to rescue CF phenotype in combinatory therapy with the so called proteostasis regulator cysteamine. However up to now the ultimate mechanism of action of CK2 in CF is still unclear.

Hypothesis and objectives. The main aim of the project is to reveal the molecular mechanism and clear cut the role of CK2 in regulating F508delCFTR stability. Indeed CK2 inhibitors should be used in combination with F508delCFTR rescuing molecules, as they permit an increase stability of the protein but not the movement of F508delCFTR to the plasma membrane where it exerts its function. Therefore for a combinatory therapy it is essential to uncover the exact mechanism(s) of action of this class of compounds.

Essential Methods. We will perform *in vitro* and *in cells* studies to demonstrate how CK2 can affect F508del stability using knockout cells for CK2, add-back experiments, transfections and specific CK2 kinase inhibitors.

Preliminary results. We have strong preliminary evidences that the mechanism of action of CK2 is at the level of Hsp27/Ubc9/SUMO/RNF4 QC pathway.

Expected results and their significance. We are confident, thanks to our preliminary results, to provide a delineated mechanism of CK2 role in stabilization of F508delCFTR. Our pre-clinical study will provide the rationale for the use of CK2 inhibitors in combinatory therapies with correctors or proteostasis regulators for the rescue and stabilization of F508delCFTR at the plasma membrane.

Modulazione delle protein chinasi per regolare le molecole chaperoniche che controllano il destino della proteina F508del-CFTR

Ragioni dello studio. La delezione di un singolo aminoacido nella posizione 508 del "regolatore transmembrana della fibrosi cistica" (CFTR) indicata dalla sigla F508del è la più frequente mutazione che causa la Fibrosi Cistica. F508delCFTR è una proteina funzionale ma la mutazione è responsabile di un ripiegamento non corretto che porta alla sua ritenzione nel reticolo endoplasmatico con prematura degradazione. Più del 99% del F508delCFTR è degradato prima di raggiungere la membrana plasmatica. Inoltre la minima quantità che raggiunge la membrana plasmatica mostra una emivita più breve rispetto alla forma non mutata. L'utilizzo dei così detti "correttori" nella terapia farmacologica della fibrosi cistica viene utilizzata per favorire un maggior recupero di proteina alla membrana plasmatica, terapia che può essere supportata da molecole che ne incrementino la sua stabilità. Recent pubblicazioni hanno mostrato che la proteina CK2 è coinvolta nella regolazione della stabilità del F508delCFTR. L'inibizione di CK2 promuove l'accumulo di F508delCFTR, ma non è di per sé sufficiente a supportare il suo recupero a livello della membrana plasmatica. Questa è la motivazione che ha suggerito il suo utilizzo in una terapia combinata con la cisteamina che invece favorisce il recupero di F508delCFTR alla membrana plasmatica.

Ipotesi e Obiettivi. Non si conosce come la proteina CK2 regoli la stabilità del F508del. Il nostro principale obiettivo è mettere in luce i meccanismi molecolari alla base di questa regolazione per un utilizzo di inibitori di CK2 in terapie combinate con correttori o regolatori della proteostasi. La conoscenza del preciso meccanismo di azione degli inibitori di CK2 è alla base per una terapia combinata.

Metodi essenziali. Verranno utilizzate cellule che esprimono CFTR normale e con la mutazione F508delCFTR. Mediante l'innovativa tecnica del CRIPR/Cas9 si eliminerà a livello genico in queste cellule la proteina CK2 e se ne valuteranno gli effetti a livello della stabilità e della maturazione

del F508delCFTR anche in seguito al trattamento con differenti correttori o inibitori della proteostasi. La proteina CK2 potrà poi essere ri-espressa in queste cellule per confermare i risultati ottenuti.

Risultati preliminari. Risultati preliminari supportano l'ipotesi che CK2 regoli la stabilità del F508delCFTR agendo

sulla via del segnale "Hsp27/Ubc9/SUMO/RNF4".

Risultati attesi e loro significato. Il nostro studio pre-clinico fornirà il razionale per l'uso di inibitori della proteina CK2 in terapie combinate con correttori o regolatori della proteostasi per il recupero e la stabilizzazione del F508delCFTR alla membrana plasmatica.

Posters B – MICROBIOLOGY / INFECTION

22. Genetically diverse mice as innovative model for cystic fibrosis

Sipione B¹, De Fino I¹, Iraqi F², Bragonzi A¹, Lorè NI¹

¹Infection and Cystic Fibrosis Unit, Division of Immunology, Transplantation and Infectious Diseases, IRCCS - San Raffaele Scientific Institute, Milan, Italy, ²Department of Clinical Microbiology and Immunology, Sackler Faculty of Medicine, Tel Aviv University, Ramat Aviv, 69978, Tel Aviv, Israel (FFC#11/2015, In progress)



Nicola Ivan Lorè e una collaboratrice del progetto

Background. Clinical evidences suggest that the outcome of the respiratory infections may be extremely variable among cystic fibrosis (CF) patients. In addition to the CF transmembrane conductance regulator (CFTR) gene defect, the progression and severity of pulmonary disease seems to correlate also to other genetic factors. In mouse models, the critical importance of host genetic background in determining CF phenotype has been neglected. So far, several CF mouse models were generated by using redundant genetic backgrounds, which do not represent the heterogeneity of the human population. Recently, Collaborative Cross (CC) mouse population has been generated as a powerful source to model the diversity of the human population and overcoming the limitation of existing resources.

Hypothesis and objectives. The underlying hypothesis guiding our proposal is that the disruption of CFTR in populations with genetic diversity may cause different pathological alterations in the lung when compared to genetic backgrounds of the common laboratory strains. Thus, this project will take advantage of unique CC mice and existing CF mouse model (Δ F508^{-/-}) to generate new Δ F508^{-/-} murine lines in CC genetic background with deviant susceptibility to airway infection.

Methods. Selection of candidate resistant (R) and susceptible (S) CC lines to *P. aeruginosa* infection was performed using a data sets, including survival rate, bacterial load and inflammatory response. By backcross breeding, the Δ F508^{-/-} mice have been introduced in two (R and S) CC backgrounds. Marker-Assisted Accelerated Backcrossing was used to accelerate backcross strategy.

Results. Phenotypic characterization of CC lines showed that the host genetic diversity influences the progress and severity of *P. aeruginosa* airway infection. Based on these results,

Δ F508^{-/-} of C57Bl/6 mice has been backcrossed into two CC lines with deviant phenotypes for airway disease. We encountered good fertility and breeding performance. We aim to generate CC-R- Δ F508^{-/-} and CC-S- Δ F508^{-/-} congenic murine after N5 generation. At the moment we are at N3 generation.

Spin-off for research & clinical purposes. We aim to generate new CF mouse models with heterogeneous traits of lung pathology, including *P. aeruginosa* infection. The proposed research project will impact on different areas of CF research including: i) study on pathophysiology of Δ F508^{-/-} airway disease; ii) identification of new CF modifier genes/prognostic markers.

Nuovi modelli murini di fibrosi cistica con diversi profili genetici

Ragioni dello studio. Nei pazienti con fibrosi cistica (FC), il difetto del gene CFTR non spiega totalmente la progressione e gravità della malattia polmonare. La comunità scientifica si sta muovendo nell'identificare altri fattori genetici dell'ospite (geni modificatori) responsabili della patologia respiratoria. Finora nei modelli murini, l'importanza del profilo genetico dell'ospite come determinante della gravità della malattia FC è stata trascurata. Infatti, sono stati generati diversi modelli murini FC, utilizzando profili genetici ridondanti che non rappresentano l'eterogeneità della popolazione umana. Recentemente è stata generata una popolazione murina, chiamata 'Collaborative Cross' (CC), che mima la diversità genetica della popolazione umana.

Ipotesi e obiettivo. La nostra ipotesi è che il difetto del canale CFTR in popolazioni con profili genetici differenti possa causare diverse alterazioni patologiche nel polmone. Pertanto, l'obiettivo di questo progetto è quello di generare nuovi modelli murini con mutazione Δ F508 in profili genetici con diversa suscettibilità alle infezioni delle vie respiratorie.

Metodi. Linee di topo CC sono state caratterizzate per la gravità della patologia polmonare al fine di selezionare quelle più resistenti (R) e suscettibili (S) all'infezione respiratoria da *P. aeruginosa*. Linee murine selezionate della nuova popolazione CC sono state incrociate con un modello già esistente di topo FC con l'obiettivo primario di trasferire la mutazione Δ F508 nel profilo genetico del topo CC.

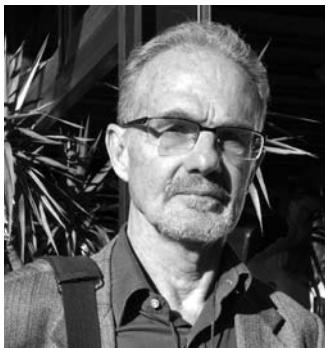
Risultati. La nostra caratterizzazione fenotipica, utilizzando i nuovi modelli di topo CC, mostra che il profilo genetico dell'ospite influenza la severità e la progressione dell'infezione da *P. aeruginosa*. Sulla base di questi risultati, sono state selezionate due linee murine della popolazione CC aventi diversi profili genetici (R e S). Attraverso approcci genetici e molecolari, stiamo procedendo con il trasferire la mutazione Δ F508 nelle due linee CC selezionate al fine di poter generare nuovi modelli murini, che manifestino la malattia polmonare FC con diversa gravità.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. Il risultato principale di questo progetto sarà la generazione di nuovi modelli murini di FC, i quali avranno un impatto su diverse aree di ricerca FC. In particolare i) sullo studio della fisiopatologia delle vie respiratorie in soggetti con la mutazione Δ F508; ii) sull'identificazione di potenziali geni modificatori o marcatori prognostici in FC.

23. Establishment of animal model to investigate pathogenesis of infection by *Mycobacterium abscessus* complex members in cystic fibrosis patients

Tortoli E¹, Baldan R¹, Cigana C², Colombo C³, Di Serio C⁴, Riva C¹, Tagliani E¹, Bragonzi A², Cirillo DM¹

¹Unità Patogeni Batterici Emergenti, IRCCS San Raffaele, Milano, ²Unità Infezioni e Fibrosi Cistica, IRCCS San Raffaele, Milano, ³Unità Fibrosi Cistica, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano, ⁴Centro Universitario per la Statistica delle Scienze Biomediche, Università Vita-Salute San Raffaele, Milano (FFC#13/2016, New)



Enrico Tortoli, titolare del progetto di ricerca

Background and rationale. In our previous study, we have fully characterized by whole genome sequencing more than 150 *M. abscessus*, including members of its three subspecies (*abscessus*, *bolletii* and *massiliense*), isolated from cystic fibrosis patients (CF). We observed a large diversity in the clinical presentation, ranging from asymptomatic to severe pulmonary disease.

Hypothesis and objectives. The hypothesis is that the strains of *M. abscessus* isolated from patients with deteriorated lung functionality may differ in pathogenicity from the ones isolated from asymptomatic patients. To assess the pathogenic potential of different *M. abscessus* strains a murine model of chronic infection will be developed and tested on C57BL/6NCrlBR mice in parallel with wild type congenic mice. The different role of the three subspecies of *M. abscessus* will be evaluated as well.

Essential methods. In our collection of fully characterized *M. abscessus* will be selected six strains, two for each of the three subspecies, *abscessus*, *bolletii* and *massiliense*. Each couple of strains will include one isolate from a patient with severe pulmonary disease and one from an asymptomatic patient. The strains above will be used to establish a murine model of chronic infection.

Preliminary results. A murine model of chronic pulmonary infection has been already developed and successfully tested for other pathogenic species.

Expected results and their significance. The detection of virulence markers would allow to differentiate pathogenic infections from colonisations and, consequently, to treat the patients of the first group only.

Messa a punto di un modello animale per lo studio della patogenesi dell'infezione da *Mycobacterium abscessus* in pazienti con fibrosi cistica

Ragioni dello studio. Sviluppare un modello animale di infezione cronica per cercare di comprendere la causa dell'estrema variabilità del quadro clinico (da assenza di sintomi e segni a grave compromissione della funzionalità respiratoria)

nei pazienti FC con infezione cronica da *M. abscessus*.

Ipotesi e obiettivi. L'ipotesi è che i ceppi di provenienti da pazienti con sintomatologia grave presentino, nei modelli sperimentali, una patogenicità significativamente diversa rispetto a quelli provenienti dai pazienti asintomatici. Cercheremo quindi di verificare se i ceppi isolati da pazienti con quadro clinico diverso abbiano diversa patogenicità e se vi siano differenze fra le 3 sottospecie di *M. abscessus*. A tal fine sarà sviluppato un modello murino di infezione cronica su cui saranno testati ceppi MA selezionati in precedenza. Il quadro infettivo sarà valutato in parallelo in topi FC e in topi non FC.

Metodi essenziali. Selezione di ceppi da cimentare nel modello sperimentale di infezione: nella nostra collezione, comprendente 270 isolati di *M. abscessus* provenienti da pazienti FC saranno selezionati 6 ceppi, 2 per ciascuna delle 3 sottospecie, *abscessus*, *bolletii* e *massiliense*. I ceppi di ciascuna coppia saranno scelti fra quelli isolati da pazienti con sintomatologia grave e da pazienti asintomatici rispettivamente.

Risultati preliminari. Un modello murino di infezione cronica è già stato messo a punto e sperimentato con successo su altri patogeni.

Risultati attesi e loro significato. L'individuazione di marker di virulenza permetterebbe di differenziare le infezioni a carattere patogeno dalle colonizzazioni e quindi di sottoporre a terapia solo i pazienti appartenenti al primo gruppo.

24. Role of small RNA-based regulatory systems in cystic fibrosis airways infection by *Pseudomonas aeruginosa*: a new frontier in the identification of molecular targets for novel antibacterials

Bertoni G

Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Milano (FFC#14/2016, New)



Giovanni Bertoni, titolare del progetto

Background and rationale. The rise in antimicrobial drug resistance, alongside the failure of conventional research to discover new antibiotics, is inevitably and drastically limiting our ability to combat infectious processes. For these reasons, also in the field of CF airways infection by *Pseudomonas aeruginosa*, the comprehension of molecular mechanisms underlying the infection process is crucial to the design of new clinical protocols to prevent and contrast it. In this perspective, anti-virulence therapies have become an attractive approach that may yield drugs with high specificity and narrow spectra, and bacterial small RNAs (sRNAs) represent a largely unexploited category of potential targets for anti-virulence design. Interestingly, sRNAs have been shown to play key roles not only in modulating bacterial virulence but

also microbial processes leading to antibiotic resistance.

Hypothesis and objectives. In this background, the main aims of this proposal are: i) to assess the involvement of three newly discovered *P. aeruginosa* sRNAs (named ErsA, Real and PesA) in regulatory mechanisms underlying antibiotics resistance; ii) to investigate the capability of mutants for these sRNAs to establish chronic infection in murine models, and their impact on antibiotic treatments.

Essential methods. To achieve these goals, sRNA-deleted mutants will i) undergo to the Minimum Inhibitory Concentrations (MICs) determination of antibiotics commonly used in the clinical practice; ii) be tested for virulence in murine models of chronic infection in the absence and in the presence of antibiotics selected on the basis of MIC results.

Preliminary results. Remarkably, the sRNA mutants showed to be less pro-inflammatory than the wt and induced lower cell death in infected bronchial epithelial cells.

Expected results and their significance. This project aims at developing novel evidences that could suggest potential useful applications in clinical settings. In particular, the study of sRNAs impact in murine models of host-pathogen interaction can provide the fundamental knowledge for developing next-generation antibiotics that will have sRNAs as novel targets. The information resulting from this study, associated with future small molecules modeling, will allow the identification of potential chemical scaffolds or antisense molecules able to bind the target sRNA and inhibit its functions.

Ruolo di sistemi regolati da piccoli RNA non codificanti nell'infezione da *Pseudomonas aeruginosa* delle vie aeree di malati FC: una nuova frontiera nell'identificazione di bersagli molecolari per antibatterici innovativi

Ragioni dello studio. L'aumento delle resistenze ai farmaci antimicrobici, associato al fallimento della ricerca convenzionale nella scoperta di nuove molecole antibiotiche, sta limitando in modo drastico ed inesorabile la nostra capacità di combattere i processi infettivi. È per questi motivi che, anche nel campo delle infezioni delle vie aeree CF da parte del batterio *Pseudomonas aeruginosa*, risulta cruciale riuscire a comprendere i meccanismi molecolari che stanno alla base delle infezioni al fine di progettare nuovi protocolli clinici per prevenirle e contrastarle. Le terapie anti-virulenza appaiono come un interessante approccio che potrebbe condurre all'identificazione di nuovi farmaci con elevata specificità e spettro ristretto ed, in questa prospettiva, i piccoli RNA batterici (sRNA) rappresentano una categoria ancora poco sfruttata di potenziali bersagli. È interessante inoltre notare che gli sRNA hanno mostrato di giocare un ruolo chiave non solo nei meccanismi di modulazione della virulenza batterica ma anche in processi di resistenza agli antibiotici.

Ipotesi ed obiettivi. In questo contesto, gli obiettivi principali di questo progetto sono i) valutare il coinvolgimento di tre sRNA di *P. aeruginosa* recentemente scoperti nel laboratorio del PI (chiamati ErsA, Real e PesA) in meccanismi di regolazione alla base di processi di resistenza ad antibiotici; ii) indagare la capacità di ceppi mutati in questi sRNA di stabilire infezioni croniche in modelli murini e valutarne l'impatto nei trattamenti antibiotici.

Metodi essenziali. Per raggiungere questi obiettivi, ceppi mutanti per gli sRNA saranno i) soggetti alla determinazione della minima concentrazione inhibente (MIC) per antibiotici di uso clinico; ii) analizzati in modelli murini di infezione cronica sia in assenza che in presenza di antibiotici scelti sulla base dei risultati di MIC.

Risultati preliminari. I mutanti per gli sRNA si sono rivelati meno pro-infiammatori rispetto al wild-type ed hanno mostrato di indurre una minore mortalità in cellule bronchiali infette.

Risultati attesi e loro significato. Lo studio dell'impatto degli sRNA in modelli murini di interazione ospite-patogeno potrà fornire conoscenze fondamentali per lo sviluppo di antibiotici di nuova generazione che utilizzeranno gli sRNA come bersagli. Le informazioni risultanti da questo progetto, associate a studi futuri di modelling molecolare di piccole molecole, potrà consentire l'identificazione di potenziali scheletri chimici o di molecole antisenso capaci di legarsi all'sRNA bersaglio e inibirne le funzioni.

25. Cystic fibrosis modifier genes related to *Pseudomonas aeruginosa* lung disease

Nicola IL¹, Corvol H², Bragonzi A¹

¹Infection and Cystic Fibrosis Unit, Division of Immunology, Transplantation and Infectious Diseases, IRCCS - San Raffaele Scientific Institute, Milan, Italy, ²St-Antoine Research Center, Inserm, Paris, France (FFC#15/2016, New)



Alessandra Bragonzi, al centro, con i colleghi di ricerca

Background/Rationale. In cystic fibrosis (CF) patients, poor phenotype/genotype correlation for the CF transmembrane conductance regulator (CFTR) causing mutation has been described with particular regard to the severity of the pulmonary infections. Thus, the identification of non-CFTR genetic variations as contributors of individual risk factors of lung pathology is the clinical need and the challenge ahead for effective CF treatment.

Objectives and methods. Candidate modifier genes, identified previously by our group, will be validated as risk factors for *Pseudomonas aeruginosa* infection and disease severity: 1) in immortalized human cell lines by gene editing employing CRISPR/Cas9 approach and in primary bronchial cells and tissue from CF patients. 2) in CF patients cohorts by exploring available BIO-banks.

Preliminary results (personal). In a previous project (FFC#9/2014), we took advantage of the Collaborative Cross (CC) mice, a highly genetically diverse mouse resource population, to identify host genetic variations ("modifier genes") as risk factors for *P. aeruginosa* infection ((Lorè, 2015) and unpublished). We demonstrated that *P. aeruginosa* pneumonia is linked to host genetic determinants and we mapped a significant locus on chromosome 3 of CC lines as *Pseudomonas* respiratory infection resistant locus. Within this locus, 14 candidate genes, including those related to host defense and immunity were ranked with high score and considered the most promising for further validation.

Expected results. The panel of candidate modifier genes will be validated in CF models in vitro, ex-vivo and in patients as following: 1. Gene editing of candidate modifier genes will be set-up in CF human cell lines by CRISPR/Cas9 approach and response to *P. aeruginosa* infection evaluated. Expression and proteins levels will be recorded in primary bronchial epithelial cells and tissue from CF patients. 2. Search and

*identification of variants by sequence analysis among CF patients with or without *P. aeruginosa* infection will be carried out in available BIO-bank.*

Significance. Overall, this project will lead: 1. to set up a model system to characterize modifiers genes associated with *P. aeruginosa* susceptibility. 2. to validate the newly defined modifier genes in cohorts of CF patients.

Geni modificatori legati alla malattia polmonare da *Pseudomonas aeruginosa* in fibrosi cistica

Ragioni dello studio. La fibrosi cistica (FC) è una malattia monogenica recessiva causata da mutazioni nel gene codificante per un canale del cloro transmembrana, il CFTR. La malattia polmonare, caratterizzata da bronchiectasie, presenza di muco nelle vie aeree e distruzione parenchimale dovuta ad infezioni da *P. aeruginosa*, è responsabile della mortalità dei pazienti FC. Esiste una notevole eterogeneità nell'insorgenza dell'infezione batterica e nella gravità della malattia polmonare in pazienti FC, anche quelli che hanno le stesse mutazioni nel gene *Cftr*.

Ipotesi. Questo indica che il genotipo CFTR non può essere ritenuto l'unico responsabile per il fenotipo polmonare ed altri geni, definiti modificatori sarebbero responsabili della severità della patologia polmonare e al rischio di infezioni da *P. aeruginosa*.

Risultati preliminari e metodologia. In un precedente progetto, abbiamo adottato una strategia innovativa e mappato variazioni genetiche ("geni modificatori") come fattori di rischio per l'infezione da *P. aeruginosa* nei topi.

Obiettivi. In questo nuovo progetto, i geni candidati saranno validati in sistemi modello per la FC e in pazienti con FC. In particolare, sarà adottato un nuovo ed efficiente strumento per l'inattivazione genica nel genoma dei mammiferi (CRISPR/Cas9) per esplorare il ruolo dei geni modificatori in risposta alle infezioni *P. aeruginosa* e CFTR. Successivamente, i risultati verranno validati nella popolazione umana in uno studio di associazione in pazienti CF con o senza infezione da *P. aeruginosa* e selezionati sulla base della gravità della malattia. Saranno rese disponibili BIO-banche di campioni FC precedentemente raccolti all'interno del gruppo di lavoro Geni modificatori ECFS per l'analisi e la priorità sarà data alla coorte italiana.

Risultati attesi. Si prevede che i dati originati da questo approccio innovativo genereranno nuove informazioni genetiche utili per identificare nuovi bersagli diagnostici, prognostici e terapeutici.

26. Phage therapy against *Pseudomonas aeruginosa* infections in cystic fibrosis patients

Forti F¹, Briani F¹, Horner D¹, Ghisotti DE¹

¹Dep. of Biosciences, University of Milan, Italy
(FFC#16/2016, New)



Daniela Erica Ghisotti,
titolare del progetto

Background and rationale. *Pseudomonas aeruginosa* is the most common pathogen found in the lung of cystic fibrosis patients (CF). The quality of life of CF patients largely depends on the success or failure of antibiotic treatment. Now, the alarming diffusion of isolates of *P. aeruginosa* multi-resistant to the antibiotics currently in use makes urgently need to develop new antibacterial therapies.

Hypotesis and objectives. Phage therapy, the use of the natural enemies of bacteria, is garnering renewed interest as bacterial resistance to antibiotics becomes widespread. This therapy, used for decades in Eastern Europe, can be considered as a therapeutic alternative or a complementary treatment to antibiotics in curing lung infections in CF patients.

Essential methods. Advantages on antibiotic therapy are that bacteriophages: 1) multiply at the infection site, increasing their number, whereas antibiotics are metabolized and eliminated from the body; 2) target only specific bacteria, with no effect on commensal flora; 3) contrary to antibiotics that are defined chemical molecules, phages can mutate and overcome bacterial resistance; 4) have the capacity to reach bacteria trapped inside biofilms, the matrix that acts as a shield for pathogenic bacteria in the CF patients lungs.

Preliminary results. During a preliminary one-year project we isolated and characterized some tens of phages, selecting 6 of them that presented a different host range on *P. aeruginosa* clinical strains. These 6 phages were mixed in a cocktail and found to be able to efficiently kill a number of different *P. aeruginosa* clinical strains *in vitro*. We also determined the ability of the phage cocktail to destroy a preformed *P. aeruginosa* biofilm. Electron microscopy indicated that 3 are Podoviridae, 2 Myoviridae and 1 Siphoviridae. The genome sequences of 3 of them have been completed, the others are in progress. Genome analysis of the sequences indicated the absence of any undesirable gene in two phages, whereas the third encoded integrase, suggesting to discard this phage for human therapy. We intend to validate the efficacy of our phage cocktail *in vivo*, using two different model systems: the traditional mice model, and a new model that uses the *Galleria mellonella* larvae. The latter is less expensive and ethically acceptable, and can be extended to a high number of different *P. aeruginosa* clinical strains, including multi-resistant strains.

Expected results and their significance. We expect that our phage cocktail has the potential for development as a therapeutic to control *P. aeruginosa* infections in CF patients.

Terapia fagica per combattere le infezioni da *Pseudomonas aeruginosa* in pazienti con fibrosi cistica

Ragioni dello studio. *Pseudomonas aeruginosa* è il batterio patogeno più comune in infezioni polmonari di pazienti con fibrosi cistica. L'uso degli antibiotici ha permesso di controllare le infezioni, migliorando la qualità di vita dei pazienti. Tuttavia, negli ultimi anni, si sono diffusi ceppi batterici multiresistenti agli antibiotici, che rendono inefficace la cura. Di conseguenza, in tutto il mondo, si cercano nuove terapie capaci di sostituirli.

Ipotesi e obiettivi. Nemici naturali dei batteri sono i fagi, virus che infettano in modo specifico le cellule batteriche, causandone la morte. La terapia basata sull'utilizzo dei fagi per prevenire o eliminare un'infezione batterica è utilizzata in molti paesi dell'Est Europa, ma nella medicina occidentale si è cominciato solo da pochi anni a prestarle le dovute attenzioni.

Metodi essenziali. I vantaggi principali dell'uso dei fagi per combattere l'infezione sono sia la specificità di azione, diretta solo verso i batteri nocivi e capace di agire anche contro i batteri multiresistenti agli antibiotici, sia la capacità dei fagi di penetrare all'interno del biofilm, una specie di "scudo" prodotto da *P. aeruginosa*, difficilmente penetrabile agli anti-

biotici. Queste caratteristiche rendono i fagi una promettente arma terapeutica contro le infezioni batteriche.

Risultati preliminari. Nel corso di un progetto precedente abbiamo isolato e caratterizzato alcune decine di fagi, tra i quali ne abbiamo scelto 6 che, mescolati in un cocktail, si sono mostrati efficaci *in vitro* per combattere *P. aeruginosa*. I sei fagi sono stati analizzati al microscopio elettronico e il loro genoma è stato sequenziato, per verificare che non contenessero geni "indesiderati" per un uso in terapia nell'uomo. Uno dei fagi è stato scartato perché sintetizza una integrasi, che potrebbe favorire il suo mantenimento all'interno del batterio stesso. Intendiamo proseguire questo studio, verificando l'efficacia del trattamento *in vivo* di infezioni da *P. aeruginosa* sia in topo sia in larve di *Galleria*, un nuovo modello, poco costoso e eticamente accettabile, con cui verificare l'azione del cocktail contro infezioni causate da ceppi di *P. aeruginosa* di diverso tipo, compreso quelli multiresistenti.

Risultati attesi e loro significato. Il nostro obiettivo è riuscire a trasformare il cocktail di fagi in uno strumento terapeutico per combattere le infezioni da *P. aeruginosa* nei pazienti affetti da FC.

27. Development of inhalable particles for optimal delivery of a potent antimicrobial molecule in *Pseudomonas aeruginosa* infected lungs

Pini A¹, d'Angelo I²

¹Dipartimento di Biotecnologia Medica, Università di Siena,

²Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali, Biologiche e Farmaceutiche, Di.S.T.A.Bi.F., Seconda Università di Napoli (FFC#17/2016, New)



Alessandro Pini, a sinistra, titolare del progetto, e Ivana d'Angelo, a capo del gruppo partner

The antimicrobial peptide M33 is a molecule currently in preclinical development phase for the set up of a new antibiotic drug for lung infections in Cystic Fibrosis (CF) patients. Parallel to the preclinical development of the molecule as a free drug, we are studying the most suitable delivery systems to enhance its effectiveness. The environment of CF bronchopulmonary patient, rich of mucus and other pathological factors, may inhibit the normal transport of the free peptide to the site of infection. Inhalable powders will be used for the peptide encapsulation, in order to allow to M33 an optimal achievement of pulmonary infection sites. The work will be done in collaboration between two research groups from Siena and Naples. The Siena group will manufacture the molecule patented by the University of Siena, and will manage the animal experiments. The Naples group will be dedicated to the selection of the powders and encapsulation of M33 in them, in addition to the *in vitro* characterization of the compounds obtained by encapsulation.

The M33 peptide will be produced according to the manufacturing procedures developed in the past and encapsu-

lated in various types of organic particles to identify the best possible system for the release of the molecule into the site of infection. After encapsulation, the compounds obtained will be tested *in vitro* for their efficacy and toxicity. Initially, it will be studied the behaviour of the compounds in conditions reproducing the physio-pathological environment present in the lung of CF patients. This will allow to assess whether the pathological conditions, here established experimentally, will impact on the effectiveness of the encapsulated peptide. The best compound in terms of efficacy and toxicity will then be evaluated *in vivo*. For this aim, *in vivo* experiments in which animals will be subjected to aerosol applications, will be developed to evaluate the effectiveness of the compound in mice infected in the lungs with *P. aeruginosa* bacteria.

The goal of this project is the development of a new formulation and delivery system of the antimicrobial peptide M33. Proponents expect to get results applicable in humans within a few years.

Sviluppo di particelle inalabili per la somministrazione ottimale di una potente molecola antimicrobica nelle infezioni polmonari dovute a *P. aeruginosa*

Il peptide antimicrobico M33 è una molecola attualmente in fase di sviluppo preclinico per la messa a punto di un nuovo farmaco antibiotico per la cura delle infezioni riscontrate nei pazienti di Fibrosi Cistica (CF). Parallelamente allo sviluppo della molecola nella sua forma libera, si stanno studiando sistemi di somministrazione più adatti per potenziare la sua efficacia. Infatti l'ambiente broncopolmonare del paziente CF, ricco di muco e altri fattori patologici, potrebbe inibire il normale raggiungimento del sito di infezione da parte del peptide libero. L'utilizzo di polveri inalabili in cui incapsulare la molecola e permettergli un ottimale raggiungimento dei siti di infezione polmonari, è l'obiettivo di questo progetto. Il lavoro sarà svolto in collaborazione tra due gruppi di ricerca di Siena e Napoli. Il gruppo di Siena si occuperà della produzione della molecola brevettata dall'Università di Siena e della sperimentazione animale. Il gruppo di Napoli sarà dedicato alla selezione delle polveri e all'incapsulamento di M33 in esse, oltre alla caratterizzazione *in vitro* dei composti ottenuti.

Il peptide M33 sarà prodotto secondo le procedure di manifattura messe a punto in passato e incapsulato in particelle organiche di varia natura per identificare il miglior sistema possibile per il rilascio della molecola nel sito di infezione. Dopo l'incapsulamento i composti ottenuti saranno testati *in vitro* per la loro efficacia e tossicità. Inizialmente sarà studiato il comportamento dei composti in condizioni riproducenti l'ambiente fisiopatologico del polmone fibroistico, per valutare se le condizioni instaurate sperimentalmente incidano sull'efficacia del peptide. Il miglior composto in termini di efficacia e tossicità sarà quindi valutato *in vivo* attraverso applicazioni per aerosol in topi infettati nel polmone con il batterio *P. aeruginosa*.

L'obiettivo di questo progetto è la messa a punto di una nuova formulazione e sistema di somministrazione del peptide antimicrobico M33. I proponenti si aspettano di ottenere risultati applicabili nell'uomo entro alcuni anni.

28. Impact of anti- *Staphylococcus aureus* treatment on *Pseudomonas aeruginosa*-induced lung damage

Cirillo DM

Emerging Bacterial Pathogens Unit, San Raffaele Scientific Institute, Milan, Italy (FFC#15/2015, In progress)



Daniela Maria Cirillo, titolare del progetto di ricerca

Background. The incidence and prevalence of *S. aureus* (SA) is increasing in the cystic fibrosis (CF) population, with methicillin-resistant SA (MRSA) being on the rise. Although SA is a common pathogen in CF it is still unknown which impact SA plays in the progression of the CF lung disease and if SA primes the way for *P. aeruginosa* (PA) infection. Furthermore the benefit of methicillin-susceptible SA (MSSA) or MRSA eradication needs to be defined.

Hypothesis and objectives. Our hypothesis is that the early treatment of SA infection could be beneficial for CF pulmonary disease. For this reason we established murine models of chronic lung infection to 1) set-up protocols for MSSA/MRSA eradication and to 2) define the impact of different SA treatment strategies on PA colonization and the progression of pulmonary disease.

Methods. SA reference strain (Newman), PA reference strain (PA14) and clinical pairs of MSSA/PA were used to establish chronic infection in C57Bl/6NCr mice. Different protocols of amoxicillin/clavulanate (AC) administration were tested in mice infected by SA. Mice were monitored for body weight, mortality and lungs were processed for microbiological analysis and inflammatory response.

Results. The administration of 200 mg/Kg of AC for 10 days was able to contain the bacterial load of SA (Newman), without inducing adverse toxic effect on mice. AC also affected the inflammatory response and preserved the lungs of mice treated. After 14 days of super-infection with PA14, preliminary results showed that the percentage of mortality induced by PA14 in groups of mice pre-infected with SA, was less when compared with PA single infection, and was not affected by AC treatment (PA14 alone: 60%, Newman + AC + PA14: 40% and Newman + PA 14: 35%). Conversely, AC administration reduced parenchymal lesions caused by SA in comparison to the untreated mice. A pair of clinical isolate (MSSA37 and PA37), tested for the first time in mice, were able to establish chronic infection. In addition, the treatment with 200 mg/Kg of AC was efficient to contain the bacterial burden of MSSA 37.

Spin off of research and clinical purpose. Our experiments performed with AC established for the first time a protocol for SA treatment in murine model of chronic lung infection. It opens the door to further investigate the impact of SA treatment on subsequent PA colonization and pathogenesis that it will provide new hints on how clinicians should manage CF patients infected with either MSSA or MRSA.

Impatto del trattamento anti-*Staphylococcus aureus* sul danno polmonare indotto da *Pseudomonas aeruginosa*

Ragioni dello studio. L'incidenza e la prevalenza di infezione da parte di *S. aureus* (SA) sono in aumento nei pazienti affetti da fibrosi cistica (FC). Nonostante SA sia un patogeno comune nei pazienti FC non è noto quale sia il

suo impatto nella progressione della malattia polmonare e se SA possa favorire l'infezione da parte di *P. aeruginosa* (PA). Inoltre è ancora da stabilire se l'eradicazione dei ceppi di SA meticillino-sensibili (MSSA) e meticillino-resistenti (MRSA) sia vantaggiosa per i pazienti affetti da FC.

Ipotesi e obiettivi. La nostra ipotesi è che il trattamento precoce dell'infezione di SA possa contenere la malattia polmonare. Per questo motivo abbiamo stabilito modelli murini di infezione cronica per 1) definire un protocollo che eradichi MSSA/MRSA e per 2) comprendere l'impatto del trattamento di SA sulla colonizzazione di PA e sulla progressione della malattia polmonare.

Metodi. I ceppi di riferimento di SA (Newman) e di PA (PA14) e coppie di isolati clinici MSSA/PA sono stati utilizzati per infettare cronicamente i topi C57Bl/6Ncr. L'antibiotico amoxicillina + acido clavulanico (AC) è stato somministrato ai topi per studiare l'effetto sull'infezione da SA. I topi sono stati analizzati per la perdita di peso, la mortalità e i loro polmoni sono stati processati per la conta batterica e la risposta infiammatoria.

Risultati. Tra i diversi protocolli testati, la somministrazione di 200 mg/Kg per 10 giorni è stata la più efficace nel contenere SA, senza indurre effetti tossici nei topi. AC, inoltre, ha ridotto la risposta infiammatoria e preservato la struttura polmonare rispetto ai topi non trattati. AC è risultato essere efficace anche su un ceppo clinico (MSSA 37) testato per la prima volta in un modello murino. Risultati preliminari di un esperimento di co-infezione hanno mostrato che la percentuale di mortalità indotta da PA14 nei gruppi di topi pre-infetti da SA è minore della mortalità indotta dal gruppo di topi infetto solo con PA14. La somministrazione di AC ha preservato il polmone murino dalle lesioni causate da SA in assenza di trattamento.

Possibili risultati per la ricerca clinica. Con questi esperimenti abbiamo messo a punto per la prima volta un protocollo per il trattamento di SA in un modello murino di infezione cronica. È necessario approfondire l'effetto del trattamento di SA sulla successiva colonizzazione di PA e sulla patogenesi polmonare che fornirà ai clinici nuovi suggerimenti per curare i pazienti FC infettati da MSSA o da MRSA.

29. Inhalable formulations of new molecules effective against *Burkholderia cenocepacia*: from *in vitro* to *in vivo* applications

Riccardi G¹, Ungaro F²

¹Laboratorio di Microbiologia Molecolare, Dipartimento di Biologia e Biotecnologie Lazzaro Spallanzani, Pavia,

²Dip. di Farmacia, Università degli Studi Federico II, Napoli (FFC#19/2015, In progress)

Background. There is an urgent need of new drugs effective against *Burkholderia cenocepacia*, a dangerous opportunistic pathogen for Cystic Fibrosis (CF) patients, resistant to



Giovanna Riccardi, terza da destra, con i giovani ricercatori al progetto, e Francesca Ungaro, a capo dell'unità Partner

almost classes of antibiotics available. Advanced formulations for pulmonary administration represent an ideal way to locally treat the infections. Two new molecules have been shown to be effective against *B. cenocepacia*: a pyridine compound (C103) and a benzothiadiazol derivative (C109). As they are poorly soluble, for translation *in vivo* they need to be adequately formulated.

Hypothesis and objectives. 1. To study the mechanism of action of the two compounds; 2. to develop safe and effective inhalable formulations for a prompt translation *in vivo*; 3. to test the efficacy of drug formulations against the *B. cenocepacia* wild type and clinical isolates and to perform a pilot study on bronchial epithelial cells to assess their toxicity; 4. to test the formulations in mouse models of *B. cenocepacia* infection.

Methods. C109 target identification has been pursued through a conditional growth mutant library. Drug nanocrystals were produced by evaporative precipitation into aqueous solution in the presence of different stabilizers and freeze-dried with a cryoprotectant. The resulting dry powders for inhalation suspension have been tested *in vitro* through the microdilution method, while cytotoxicity was checked through a pilot cell viability assay.

Results. C109 cellular target, which is involved in cell division, was identified and biochemically characterized, while C103 mechanism of action is still unknown. Moreover, a toxicity assay on lung epithelial cells demonstrated that C109 is less toxic than C103. So inhalable formulations of C109 were developed, fully characterized in view of pulmonary delivery and tested against *B. cenocepacia* wild type, clinical isolates, other Gram-negative bacteria and *S. aureus* with very good results.

Spin-off for research and clinical purposes. A promising inhalable formulation effective against *B. cenocepacia*, clinical isolates, other Gram-negatives and *S. aureus*, not toxic, and administrable *in vivo* has been developed and is ready to be test in a murine model of *B. cenocepacia* infection.

Formulazioni inalabili di nuove molecole attive contro *Burkholderia cenocepacia*: dalle applicazioni *in vitro* a quelle *in vivo*

Ragioni dello studio. Vi è urgente bisogno di nuovi farmaci efficaci contro *Burkholderia cenocepacia*, un patogeno opportunista molto pericoloso per i pazienti affetti da Fibrosi Cistica e resistente a quasi tutte le classi di antibiotici disponibili. Queste infezioni possono essere trattate localmente con successo utilizzando formulazioni avanzate per somministrazione polmonare. Due nuove molecole hanno dimostrato di essere efficaci contro *B. cenocepacia*: un composto piridinico (C103) e un derivato benzothiadiazolico (C109). A causa della loro scarsa solubilità, per poter essere utilizzate *in vivo* richiedono un'adeguata formulazione.

Ipotesi e Obiettivi. 1. Studiare il meccanismo d'azione dei due composti; 2. sviluppare formulazioni inalabili sicure ed efficaci per un immediato utilizzo *in vivo*; 3. testare l'efficacia delle formulazioni contro il ceppo di riferimento di *B. cenocepacia* e isolati clinici ed effettuare uno studio pilota su cellule epiteliali bronchiali per valutarne la tossicità; 4. testare le formulazioni in modelli murini di infezione da *B. cenocepacia*.

Metodi. Il bersaglio cellulare del composto C109 è stato identificato con tecniche genetiche e molecolari. Polveri a base di nanocristalli di C109 da disperdere in fisiologica per inalazione sono state ottenute mediante tecniche farmaceutiche avanzate (nanoprecipitazione in soluzione acquosa) in presenza di diversi excipienti. Le formulazioni sono state testate *in vitro* attraverso microdiluizione, mentre la citosintesi è stata verificata mediante un test di vitalità su cellule epiteliali bronchiali umane.

Risultati. Il bersaglio cellulare di C109, coinvolto nella

divisione cellulare, è stato identificato e caratterizzato biochimicamente, mentre il meccanismo d'azione di C103 è ancora sconosciuto. Inoltre, un test di tossicità su cellule epiteliali polmonari ha dimostrato che C109 è meno tossico di C103. Alla luce di tali risultati, formulazioni per l'inalazione di C109 sono state sviluppate con successo, caratterizzate in vista dell'applicazione polmonare e testate contro *B. cenocepacia*, isolati clinici, altri batteri Gram-negativi e *S. aureus* con ottimi risultati.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. Una promettente formulazione per inalazione efficace contro *B. cenocepacia*, isolati clinici, altri Gram-negativi e *S. aureus*, non tossica, e somministrabile *in vivo* è stata sviluppata ed è pronta per essere testata in un modello murino di infezione da *B. cenocepacia*.

30. Exploiting the potential of gallium for the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* pulmonary infection

Visca P¹, Peri F², Sorrentino R³

¹Department of Sciences, University Roma Tre, Rome,

²Department of Biotechnology and Biosciences, University of Milano Bicocca, Milan, ³Department of Pharmacy, University of Naples Federico II, Naples (FFC#21/2015, In progress)

Background. Morbidity and mortality in cystic fibrosis (CF) patients is ultimately attributable to persistent pulmonary infection mainly caused by the bacterium *Pseudomonas*



Foto in alto, Paolo Visca, primo a destra, titolare del progetto; foto in mezzo, Francesco Peri, al centro e, sotto, Raffaella Sorrentino, terza da destra, delle due unità Partner

aeruginosa (*Pa*). The emergence of antibiotic resistance in *Pa* has become a worrisome problem that must be addressed by identifying new drug targets and developing new antimicrobials. Iron is essential for *Pa* survival, and iron-chelating molecules (siderophores) are devoted to the transport of this element into the bacterial cytoplasm. Gallium (Ga³⁺) inhibits bacterial growth, acting as an iron mimetic, and it is a drug already used in clinical practice (brand name Ganite®) for the treatment of non-infectious diseases. The pharmacological properties of Ga³⁺ rely on the chemical resemblance between the Ga³⁺ and the Fe³⁺ (ferric) ions.

Hypothesis and objectives. *Pa* is unable to discriminate between these two ions, and erroneously incorporates Ga³⁺ instead of Fe³⁺ within essential molecules, resulting in suppression of bacterial growth. The main aim of this project is the development of new drugs to combat *Pa* lung infection. The specific objective is the development of Ga³⁺ compounds that can specifically and selectively be directed to *Pa* in the lung of CF patients via inhalable formulations.

Methods. The antibacterial properties of Ga³⁺ will be potentiated by conjugation with ligands that facilitate the delivery to *Pa*, in order to lower the therapeutic dosage. Starting from Ganite®, inhalable gallium formulations will be developed to facilitate administration to CF patients.

Results. Starting from the endogenous *Pa* siderophore pyochelin (PCH) which has been shown to potentiate Ga³⁺ delivery in *Pa* cells, new carriers have been chemically synthesized, and a panel of *Pa* biosensor strains has been generated to measure the ability of this newly synthesized molecules to convey Ga³⁺ into *Pa* cells. Different Ga³⁺ inhalable dry powders have been produced and will soon undergo toxicity and pharmacokinetics studies.

Spin-off for research & clinical purposes. We expect to generate new Ga³⁺ formulations endowed with more potent antibacterial properties, high bioavailability, low toxicity and suited for aerosol administration, thus ready for clinical testing. In the worrying scenario of increasing antibiotic resistance in *Pa*, the identification of new antimicrobials such as gallium-based compounds, is highly desirable. These compounds hold great promise for the progression into drugs with potential clinical applicability in the short-medium perspective.

Utilizzo del gallio come antibatterico nel trattamento delle infezioni polmonari da *Pseudomonas aeruginosa*

Ragioni dello studio. I pazienti con fibrosi cistica (FC) incorrono in una sequenza di infezioni polmonari, causate principalmente da *Pseudomonas aeruginosa* (*Pa*), che cronizzano e compromettono la loro funzionalità respiratoria. La preoccupante tendenza verso l'antibiotico-resistenza nei ceppi di *Pa* responsabili di infezioni in FC è oggi aggravata dalla carenza di nuovi antibiotici efficaci contro questa specie. Il gallio (Ga³⁺) inibisce la crescita batterica agendo da ferro-mimetico, ed è già utilizzato in medicina (nome commerciale Ganite®) per il trattamento di patologie non infettive. Le sue proprietà farmacologiche si basano sulla somiglianza chimica tra lo ione Ga³⁺ e lo ione ferrico (Fe³⁺).

Ipotesi e obiettivi. *Pa* è incapace di distinguere Ga³⁺ e Fe³⁺, e quindi incorpora erroneamente Ga³⁺ al posto di Fe³⁺ in molecole vitali per il suo metabolismo, rimanendo inibito nella crescita. L'obiettivo principale del nostro gruppo è ottenere dei derivati del Ga³⁺ opportunamente veicolati al fine di renderne possibile la somministrazione inalatoria nei pazienti FC.

Metodi. Combineremo competenze in chimica organica, chimica farmaceutica, microbiologia e farmacologia per sintetizzare ex novo complessi del Ga³⁺, generare veicoli per la loro somministrazione *in vivo*, determinandone le caratteristiche farmacologiche e l'efficacia nel combattere le infezioni cause da *Pa*.

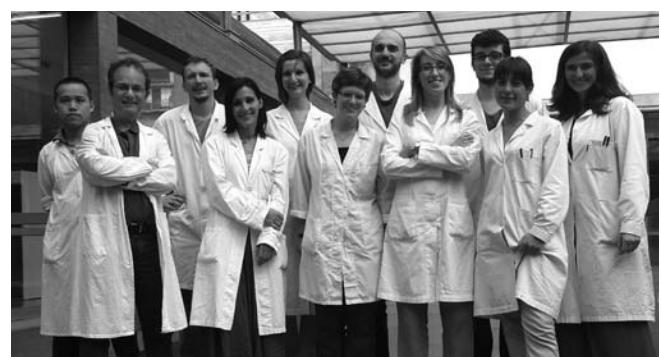
Risultati. Sono state sintetizzate chimicamente delle molecole potenzialmente in grado di trasportare il Ga³⁺ in maniera specifica nelle cellule di *Pa*, ed è stato messo a punto un metodo per valutarne la loro efficacia contro *Pa*. Inoltre sono state generate delle nuove formulazioni di Ga³⁺ somministrabili per aerosol e sono attualmente in corso studi per valutarne la loro biodisponibilità e tossicità *in vivo*.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. In una prospettiva di ineluttabile aumento dell'antibiotico-resistenza in *Pa*, è auspicabile che siano sviluppati approcci antimicrobici innovativi, come la terapia con Ga³⁺, che offre la speranza di essere trasferita dal laboratorio alla clinica nel breve-medio termine.

PLENARY SESSION 3 CF INFLAMMATION

31. Targeting PI3K γ scaffold function to activate airway CFTR, limit lung inflammation and promote bronchorelaxation in cystic fibrosis (*)

Chiogia A¹, Murabito A¹, Ren K¹, Pirozzi F², Ciraolo E¹, Montresor A³, Richter W⁴, Wenzel D⁵, Matthey M⁵, Quinneu NL⁶, Fleischmann B⁵, Gentzsch M⁶, Laudanna C³, Hirsch E^{1,7}
¹Department of Molecular Biotechnology and Health Sciences, Molecular Biotechnology Center, University of Torino, Torino, Italy, ²Division of Internal Medicine, Department of Translational Medical Sciences, Federico II University, Naples, Italy, ³Department of Pathology and Diagnostics, Division of General Pathology, School of Medicine, Verona, Italy, ⁴University of South Alabama College of Medicine, Department of Biochemistry & Molecular Biology, Mobile, USA, ⁵Institute of Physiology I, Life & Brain Center, University of Bonn, Germany, ⁶Marsico Lung Institute/Cystic Fibrosis Research Center, University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, NC 27599, USA, ⁷Kither Biotech Srl, Torino, Italy (FFC#23/2015, Completed)



Emilio Hirsch (secondo da sinistra) con il suo team di ricerca

Background and Rationale. The underlying cause of cystic fibrosis (CF) is a mutation in the gene encoding the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR), a cyclic AMP (cAMP)-stimulated chloride channel. The consequent CFTR dysfunction primarily affects the respiratory system, whe-

re the reduced activity of the channel results in obstruction of small airways and, together with airway inflammation and infections, eventually leads to respiratory failure. A number of CFTR correctors and potentiators have been developed, but their ability to rescue the basic defect of CF is still unsatisfactory.

Hypothesis and Objectives. We previously showed that phosphoinositide 3-kinase γ (PI3K γ) acts as a scaffold protein and negatively regulates cAMP. Here, we hypothesized that targeting PI3K γ scaffold activity enhances cAMP in airway smooth muscle, immune and epithelial cells, leading to concomitant (i) bronchodilation, (ii) anti-inflammatory effects and (iii) CFTR potentiation.

Methods. We explored the ability of a peptide targeting the scaffold activity of PI3K γ (Patent n° PCT/IB2015/059880 - WO/2016/103176) to function as (i) bronchodilator, (ii) anti-inflammatory and (iii) CFTR potentiator. A mouse model of chronic lung inflammation (OVA-sensitized mice) and human primary bronchial epithelial cells (F508del) were used.

Results. We found that the peptide significantly elevates cAMP in the airways and limits methacholine-induced airway hyperresponsiveness in OVA mice. In the same model, the peptide reduces neutrophilic lung inflammation and also inhibits human neutrophil adhesion in vitro. Finally, the peptide potentiates F508del currents per se, and in combination with the gold-standard potentiator VX-770, upon pharmacological correction with VX-809.

Spin-off for research & clinical purposes. Overall, the results of this study demonstrate that the PI3K γ targeting peptide may be exploited therapeutically to provide (i) bronchodilation, (ii) anti-inflammation and (iii) CFTR potentiation. This will eventually allow maximizing patients' benefit. Chemical optimization of the peptide is ongoing and will eventually pave the way to a peptide-based aerosol therapy to be used in combination with standard-of-care CFTR correctors/potentiators.

Bersagliare l'attività dell'enzima PI3K γ per riattivare il CFTR, limitare l'infiammazione polmonare e promuovere la broncodilatazione in fibrosi cistica

Ragioni dello studio. La fibrosi cistica (FC) è una patologia causata dal malfunzionamento del CFTR (ossia il regolatore della conduttanza transmembrana della fibrosi cistica), un canale del cloro che è attivato da una molecola chiamata AMP ciclico (AMPC). Il difetto del CFTR colpisce principalmente l'apparato respiratorio, dove provoca infiammazione e ostruzione delle piccole vie aeree, con superinfezione fino all'insufficienza respiratoria. Sono state sviluppate diverse molecole in grado di correggere il canale difettoso, ma al momento nessuna di queste ha dimostrato di essere realmente efficace.

Ipotesi e obiettivi. In questo progetto abbiamo proposto di colpire l'attività dell'enzima fosfoinositide 3-chinasi γ (PI3K γ) per aumentare le concentrazioni di AMPC, e promuovere tre effetti terapeutici in contemporanea: (i) broncodilatazione, (ii) anti-infiammatorio e insieme (iii) potenziamento dell'attività del CFTR.

Metodi: Abbiamo sviluppato un farmaco che inibisce PI3K γ (Brevetto n° PCT/IB2015/059880 - WO/2016/103176) e abbiamo valutato la sua capacità di agire come (i) broncodilatatore, (ii) antinfiammatorio e (iii) potenziatore del CFTR. A questo scopo, abbiamo usato un modello murino di infiammazione polmonare cronica e cellule primarie epiteliali bronchiali umane.

Risultati. Abbiamo dimostrato che questo farmaco aumenta significativamente i livelli di AMPC nelle vie aeree degli animali e riduce la broncocostrizione indotta dalla metacolina, così come l'infiammazione polmonare mediata dai neutrofili. Inoltre, questa molecola aumenta il trasporto del cloro del canale CFTR con la mutazione più frequente

(F508del), sia da solo, che in associazione con il miglior potenziatore al momento disponibile (VX-770).

Possibili ricadute per ricerca e clinica. I risultati di questo studio dimostrano che questo farmaco che bersaglia l'enzima PI3K γ può essere utilizzato farmacologicamente come (i) broncodilatatore, (ii) antinfiammatorio e (iii) potenziatore del CFTR, ottenendo il massimo beneficio per i pazienti FC. Al momento, stiamo ottimizzando la struttura chimica di questa molecola con l'obiettivo ultimo di ottenere un farmaco che possa essere somministrato via aerosol.

32. TRPA1 channels as novel molecular targets for anti-inflammatory therapies in CF lung (*)

Prandini P¹, De Logu F², Fusi C², Provezza L¹, Nassini R², Montagner G³, Materazzi S², Munari S¹, Gilioli E¹, Bezzzerri V¹, Finotti A³, Lampronti I³, Tamanini A¹, Dechechi MC¹, Lippi G¹, Ribeiro CM⁴, Rimessi A⁵, Pinton P⁵, Gambari R³, Geppetti P², Cabrini G¹

¹University Hospital of Verona, Italy, ²University of Florence, Italy; ³University of Ferrara, Italy; ⁴Marsico Lung Institute and University of North Carolina, Chapel Hill, NC, U.S.A. ⁵LTTA of the University of Ferrara, Italy. (FFC#17/2014, Completed)



Giulio Cabrini con le ricercatrici di laboratorio

Background. *Pseudomonas aeruginosa* colonization, prominent inflammation with massive expression of the neutrophil chemokine IL-8 and luminal infiltrates of neutrophils are hallmarks of chronic lung disease in Cystic Fibrosis (CF) patients. The nociceptive Transient Receptor Potential Ankyrin 1 (TRPA1) calcium channels have been recently found involved in non-neurogenic inflammation.

Hypothesis and objectives. TRPA1 channels could be involved in the pro-inflammatory signaling pathways activated in CF airway epithelial cells infected by *P. aeruginosa*. The principal objective is to verify whether TRPA1 channels could be relevant molecular targets for innovative anti-inflammatory therapies in CF patients.

Methods. CF lung sections have been analyzed to verify and localize TRPA1 expression. Several airway epithelial cell lines and primary culture of bronchial epithelial cells derived from patients affected by CF and from healthy subjects have been tested for TRPA1 expression (at mRNA and protein levels) and function (by TRPA1 agonists and inhibitors).

Results. TRPA1 channels are expressed in the CF pseudostratified columnar epithelium facing the bronchial lumina exposed to bacteria, where IL-8 is co-expressed. Inhibition of TRPA1 expression results in a relevant reduction of release of several cytokines, including IL-8 and the pro-inflammatory cytokines IL-1 β and TNF- α in CF primary bronchial epithelial cells exposed to *P. aeruginosa* and to the supernatant of mucopurulent material derived from the chronically infected airways of CF patients.

Spin-off for research & clinical purposes. TRPA1 channels are

a relevant part of the pro-inflammatory signaling regulating CF lung inflammation. The results provide the rationale to test the pharmacological inhibitors of TRPA1 channels in order to intervene in synergy with CFTR correctors and potentiators in the cure of the lung pathology of CF patients.

Il canale TRPA1 come nuovo bersaglio molecolare per lo sviluppo di terapie anti-infiammatorie in FC

Ragioni dello studio. Il lume bronchiale dei pazienti affetti da fibrosi cistica (FC) presenta una grande quantità di neutrofili polimorfonucleati, i quali vengono continuamente attivati da prodotti di degradazione batterica e rilasciano grandi quantità di DNA, proteasi e radicali dell'ossigeno (ROS), contribuendo essi stessi al danneggiamento del tessuto polmonare. Inoltre, l'infezione da parte di *P. aeruginosa* comporta un aumento di rilascio di ROS da parte dell'epitelio respiratorio. I canali cellulari non selettivi per gli ioni calcio, definiti *Transient Receptor Potential Subfamily A* (TRPA1), attivati dai ROS, stanno suscitando grande interesse presso la comunità scientifica per il loro potenziale ruolo nella infiammazione.

Ipotesi e obiettivi. L'obiettivo principale di questo progetto è studiare il possibile coinvolgimento dei canali TRPA1 nella risposta infiammatoria polmonare FC a seguito dell'infezione da parte di *P. aeruginosa* per verificare il razionale di una terapia innovativa anti-infiammatoria per i pazienti.

Metodi. Sono state utilizzate diverse linee cellulari e culture primarie epiteliali respiratorie, derivate da pazienti affetti da fibrosi cistica e da soggetti di controllo per verificare l'espressione funzionale di questi canali ed il loro ruolo nella infiammazione polmonare.

Risultati. L'espressione funzionale del canale TRPA1 è stata verificata e confermata sia in linee cellulari respiratorie umane sia in cellule epiteliali bronchiali derivate direttamente dai polmoni di pazienti ottenuti post-trapianto polmonare. Abbiamo inoltre verificato come inibitori del canale TRPA1 riducono significativamente l'espressione di diversi mediatori chimici critici nella infiammazione polmonare quali le citochine pro-infiammatorie e chemiotattiche.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. Visti i limiti delle terapie anti-infiammatorie attualmente in uso in FC, diventa necessario individuare nuove strategie anti-infiammatorie in grado di ridurre, senza abolire completamente, l'eccessiva risposta infiammatoria osservata nei polmoni dei pazienti affetti da FC. La definizione del ruolo dei canali TRPA1 nella infiammazione respiratoria costituisce la base razionale della applicazione futura di farmaci inibitori di TRPA1.

33. Targeting pathogenic pathways leading to inflammatory Th17 responses in cystic fibrosis: from drug discovery to preclinical validation (*)

Romani L

Department of Experimental Medicine, University of Perugia, Perugia, Italy (FFC#22/2014, Completed)

Background. In patients with Cystic Fibrosis (CF), the progressive decline of pulmonary function is due to a vicious cycle of airways infection and inflammation. Inflammation can be more damaging than the insult itself if uncontrolled, excessive, or prolonged. Although there is debate over whether inflammation in the CF lung is primary (i.e., caused by CFTR mutations) or secondary to chronic infection, inflammation remains the single most significant contributor to disease progression, and its control is crucial for improving patient outcomes. Building upon the results from our past



Luigina Romani, terza da sinistra, con il suo gruppo di ricercatori

projects—indicating how the application of a systems biology approach and new findings from the laboratory may translate into the development of new therapeutics and rationales for their use—we have proposed a preclinical evaluation study of anakinra, a recombinant, non-glycosylated version of human IL-1 receptor I antagonist (IL-1Ra) in CF. Since 2001, anakinra has proved to be efficacious in a broad spectrum of auto-inflammatory diseases with a remarkable record of safety.

Hypothesis and Objectives. 1. The relative contribution of different inflammasomes to fungal and bacterial infections and inflammation in CF mice. 2. The evaluation of the efficacy of anakinra in experimental and preclinical models of CF. 3. The definition of the molecular mechanisms underlying anakinra activity. 4. The screening of CF patients for IL-1Ra deficiency and the definition of anakinra-responsive signatures through microarray gene expression profiling.

Methods. The project included experimental and human studies consisting of: 1. fungal or bacterial infections in selected, genetically-modified mice treated with anakinra; 2. *in vitro* studies on ex-vivo purified immune and non-immune cells from mice and human bronchial epithelial cells (HBE) from CF and non-CF patients; 3. the screening of CF patients for IL-1RA deficiency and microarray gene expression profiling.

Results. While both contributing to pathogen clearance, NLRP3 more than NLRC4 contributed to pathogenic inflammatory responses in murine and human CF and correlated with lower levels of IL-1Ra production and reduced NLRC4 activation. Pathogenic NLRP3 activity in CF could be negatively regulated by IL-1Ra and this provided a proof-of-concept evidence that IL-1Ra may limit the pathological consequences of microbial colonization in CF. Genetic analysis supported the role of NLRC4 and IL-1Ra in determining the state of microbial colonization of CF patients.

Spin-off for research & clinical purposes. This study will provide the foundation for repurposing a drug approved for other indications for the treatment of CF.

Antagonisti della risposta infiammatoria mediata dai linfociti Th17 nella fibrosi cistica: valutazione preclinica dell'efficacia di anakinra

Ragioni dello studio. Nei pazienti con Fibrosi Cistica (FC), il progressivo declino della funzione polmonare è causa di un circolo vizioso tra infezione ed infiammazione delle vie aeree. Se l'infiammazione eccede e non viene controllata può risultare più dannosa dell'insulto che l'ha provocata. Il complesso infiammatorio chiamato "inflammasoma" appare sempre più coinvolto nei meccanismi di attivazione e regolazione dell'infiammazione. Questo progetto prevede lo studio preclinico di anakinra (un ricombinante antagonista di IL-1R), un farmaco bloccante l'inflammasoma, già usato nel trattamento di varie patologie umane su base auto-infiammatoria, di ottima tollerabilità e scarsa tossicità.

Ipotesi e obiettivi. In questo progetto proponiamo di: 1. Determinare il ruolo di diversi inflammasomi nell'infiamma-

zione in FC; 2. Valutare l'efficacia di anakinra in vivo come inibitore di inflamasoma; 3. Valutare la sua efficacia in modelli di infiammazione polmonare; 4. Valutare la suscettibilità alla patologia polmonare dei pazienti FC attraverso lo screening dei polimorfismi (SNPs) potenzialmente associati con l'attività di inflamasomi.

Metodi. Lo studio ha previsto l'utilizzo di modelli in vivo ed in vitro utili a valutare l'impatto di anakinra su infezioni ed infiammazione polmonare come di seguito indicato: 1. Infекции fungine o batteriche in topi geneticamente modificati e trattati con anakinra. 2. Studi in vitro su cellule epiteliali bronchiali da pazienti FC.

Risultati. Il nostro studio ha svelato il contributo relativo dei vari componenti dell'inflamasoma (NLRP3 e NLRC4) nel processo infettivo e/o/ infiammatorio che si verifica in corso di infezione polmonare in FC. Nella fattispecie, l'attivazione esagerata ed incontrollata di NLRP3 correlava con una esagerata produzione di IL1 β e, pertanto, con una severa infiammazione polmonare. L'attivazione di NLRC4, al contrario, si associava ad abbondante produzione di IL-1Ra e, pertanto, al blocco dell'asse NLRP3/IL1 β e dell'infiammazione polmonare. Essendo il funzionamento dell'asse NLRC4/IL-1Ra difettoso in FC, sia nel topo che nelle cellule bronchiali umane, i nostri dati fornivano le basi razionali per l'impiego di anakinra in condizioni di difettosa produzione di IL-1Ra, quale quella osservata in FC. I nostri risultati hanno chiaramente indicato che anakinra potentemente inibiva l'eccessiva attivazione di NLRP3, in vitro ed in vivo, e pertanto ne suggeriscono l'impiego in FC.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. Questo studio pone le basi per uno studio pilota con anakinra in pazienti FC.

34. Mechanisms and clinical implications of endothelial dysfunction in cystic fibrosis (*)

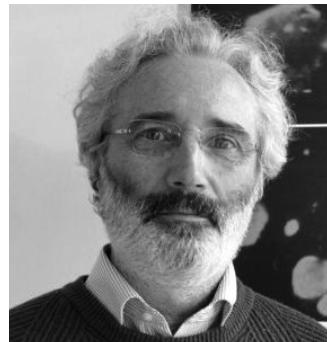
Totani L¹, Plebani R^{2,3}, Patruno S^{2,3}, Piccoli A¹, Di Silvestre S^{2,3}, Lanuti P^{3,4}, Recchiuti A^{2,3}, Cianci E^{2,3}, Dell'Elba G¹, Sacchetti S⁵, Guarnieri S^{3,6}, Mariggio MA^{3,6}, Mari VC^{2,3}, Anile M⁷, Venuta F⁷, Del Porto P⁸, Moretti P⁹, Prioletta M², Mucilli F², Marchisio M^{3,4}, Pandolfi A^{2,3}, Evangelista V¹, Romano M^{2,3}

¹Laboratory of Vascular Biology and Pharmacology, Fondazione Mario Negri Sud, Santa Maria Imbaro (CH), Italy; ²Department of Medical, Oral and Biotechnological Sciences, G. D'Annunzio University, Chieti-Pescara, Italy; ³Center on Aging Sciences and Translational Medicine (CeSI-MeT), G. D'Annunzio University, Chieti-Pescara, Italy; ⁴Department of Medicine and Aging Sciences, G. D'Annunzio University, Chieti-Pescara, Italy; ⁵Center for Synaptic Neuroscience, Italian Institute of Technology, Genoa, Italy; ⁶Department of Neurosciences, Imaging and Clinical Sciences, G. D'Annunzio University, Chieti-Pescara, Italy; ⁷Department of Thoracic Surgery, University of Rome "Sapienza" Rome, Italy; ⁸Department of Biology and Biotechnology "Charles Darwin" Sapienza University, Rome, Italy; ⁹Cystic Fibrosis Center, S. Liberatore Hospital, Atri (TE), Italy (FFC#23/2014, Completed)

Background. Despite the involvement of endothelial cells (EC) in cystic fibrosis (CF) pathogenesis is suggested by (1) the emerging evidence of the risk for cardiovascular events in CF patients as well as by (2) our work showing endothelial dysfunction and its correlation with lung disease in CF patients, EC have not been extensively studied in CF.

Hypothesis and objectives. We hypothesized that the elucidation of CFTR signaling in EC may provide clues for innovative pharmacology for CF.

Main objectives of this study were to: 1. Uncover mechanisms of CF endothelial dysfunction as molecular targets for novel therapeutics. 2. Elucidate the clinical relevance of circulating en-



Mario Romano, titolare del progetto di ricerca

dothelial cells (CEC) and endothelial microvesicles (EMV) in CF.

Methods. Flow cytometry, confocal microscopy, western blotting, real-time PCR, electrophysiology.

Results. We isolated EC from pulmonary artery of explanted CF lungs (CF-PAEC) and measured CFTR activity using patch clamping. With experiments under static conditions or shear stress, we demonstrated that CF-PAEC displayed reduced monolayer integrity and trans-endothelial electric resistance (TEER), whereas they released a higher number of microvesicles (EMV). Similar results were obtained with PAEC and CF-PAEC immortalized with SV40 Large T antigen. CF-EMV had a different impact on PAEC and CF-PAEC proliferation and TEER compared to EMV, indicating that select transcellular communication pathways via EMV are altered in CF. Along these lines, EMV and CEC were increased in peripheral blood of CF patients and inversely correlated with select respiratory indices. In an attempt to uncover molecular signatures of CFTR dysfunction in EC, we evaluated microRNA expression in PAEC and CF2-PAEC. CF2-PAEC, as well PAEC exposed to CFTRinh-172, expressed lower amounts of miR-216a-5p and 19a-3p, whereas they were enriched in miR-197-3p, 409-3p, 126-5p and 181b-5p. CFTRinh-172-treated PAEC also overexpressed (over two fold) miR-223-3p and 195-5p, whereas miR-376c-3p, 181a-5p, 216a-5p and 19b-3p were downregulated. Remarkably, agents that increase cAMP levels, such as type III and IV phosphodiesterase inhibitors and beta adrenergic receptor agonists, corrected TEER and monolayer integrity of CF-PAEC.

Spin-off for research & clinical purposes. Our results encourage further studies on miRNA and transcellular communication pathways as well as on the clinical utility of cAMP-increasing drugs to improve endothelial dysfunction in CF.

Meccanismi e rilevanza clinica della disfunzione endoteliale nella fibrosi cistica

Ragioni dello studio. Studi recenti mostrano come i pazienti con fibrosi cistica (FC) possano incorrere nel rischio di avere complicanze cardiovascolari. Questo può fare pensare che le cellule che rivestono internamente i vasi sanguigni, definite cellule endoteliali (CE), possano essere alterate nella FC. Sebbene nostri studi precedenti abbiano dimostrato come i pazienti con FC manifestino segni di disfunzione delle CE, una analisi delle conseguenze che il difetto genetico della FC possa avere sulle cellule endoteliali non è stata ancora condotta.

Ipotesi e obiettivi. La nostra ipotesi è che studiare la funzione del "cystic fibrosis transmembrane conductance regulator" (CFTR) nelle CE possa condurci allo sviluppo di nuovi farmaci per i pazienti affetti da FC. Ci proponiamo di: 1. Chiarire i meccanismi della disfunzione endoteliale nella FC al fine di individuare bersagli per terapie innovative. 2. Contare le CE e le particelle da queste rilasciate nel torrente circolatorio per stabilire se possano rappresentare un indice di severità della compromissione respiratoria dei pazienti FC.

Metodi. Citofluorimetria a flusso, microscopia, amplificazione genica, elettrofisiologia.

Risultati. Abbiamo isolato CE da frammenti di arteria polmonare prelevati da polmoni espiantati a pazienti FC e abbiamo notato come queste cellule abbiano una attività CFTR ridotta rispetto a quelle normali. Le cellule FC presentano numerose anomalie rispetto alle non FC, soprattutto quando vengono analizzate in un sistema che riproduce le condizioni del flusso sanguigno. Rispetto alle non FC, le cellule endoteliali FC rilasciano una quantità maggiore di piccole particelle, considerate dei trasportatori di messaggi da una cellula all'altra, inoltre le particelle FC hanno effetti diversi da quelle non FC sulle cellule che le catturano. Questi risultati suggeriscono che esistono anomalie di comunicazione tra le cellule nei pazienti FC e che queste anomalie possono contribuire al progredire della malattia. In realtà, i pazienti FC presentano un maggior numero di CE e di particelle da queste rilasciate nel torrente circolatorio e più alto è questo numero peggio è la funzione respiratoria.

Possibili ricadute per la ricerca clinica. Abbiamo scoperto che alcuni farmaci, impiegati in pazienti con malattie respiratorie croniche, correggono le anomalie delle cellule endoteliali FC. Questo ci fa sperare in un loro utilizzo anche nei pazienti FC.

35. Identification and characterization of LPS-neutralizing human peptides: potential tools to control inflammation in cystic fibrosis lung disease (*)

Bosso A¹, Pirone L², Di Gaetano S², Pedone E², Notomista E¹, Pizzo E¹

¹Department of Biology, University Federico II, Naples, Italy,

²IBB, CNR, 80134, Naples, Italy (FFC#20/2014, Completed)



Eliodoro Pizzo, titolare del
progetto di ricerca

Background. Host defence peptides (HDPs) are short cationic molecules produced by the immune systems of most multicellular organisms. They exhibit a wide range of biological activities from direct killing of invading pathogens to modulation of immunity. Chronic infection with *P. aeruginosa* is the main proven perpetrator of lung function decline and ultimate mortality in CF patients. HDPs, acting as anti-inflammatory molecules, could be able to block LPS pro-inflammatory activity attenuating inflammation and so limiting damage to host tissues. New potential HDPs have been identified by an *in silico* method and their biochemical and pharmacological features are under investigation.

Hypothesis and objectives. It has been demonstrated that many human proteins, with functions not necessarily related to host defense, are reservoirs of active host defense peptides. The aim of this study was to characterize structural propensity, antimicrobial activity, LPS neutralizing and anti-inflammatory properties of new human HDPs identified by a bioinformatic procedure that we have developed.

Methods. Human HDPs were obtained both by an effec-

tive procedure for the production of recombinant peptides in *E. coli* (1) and by synthetic procedures. These agents have been extensively analyzed to verify their ability to bind LPS by circular dichroism, NMR and light scattering as well as their antimicrobial, toxicity and immunological properties (2).

Results. Our bioinformatics procedure allowed to identify several novel human cryptic cationic HDPs, some of which have shown interesting LPS binding abilities. These promising LPS binding molecules showed also a broad spectrum antimicrobial activity on Gram positive and negative bacteria including several CF clinical strains, no toxicity on different human cell lines and significant propensity to mitigate cytokine and chemokine expression on human and murine LPS treated macrophages. Next steps will be to verify these LPS neutralizing properties in CF murine models.

Spin-off for research clinical purposes. We have obtained encouraging results confirming our general idea that human proteome represents a rich source of HDPs. Indeed some of novel HDPs we identified show significant anti-inflammatory effects and intriguing LPS binding ability. These evidences open suggestive perspectives on topic therapeutic use of these bioactive peptides. Innovative anti-inflammatory drugs are crucially required for the treatment of CF lung disease and a systematic approach voted to the identification of natural immunomodulating peptides well suits to this demanding task.

Identificazione e caratterizzazione di peptidi umani neutralizzanti gli LPS: potenziale strumento per controllare l'infiammazione nei polmoni FC

Ragioni dello studio. I peptidi antimicrobici sono piccole molecole cationiche prodotte dal sistema immunitario della maggior parte degli organismi pluricellulari. Essi presentano una vasta gamma di proprietà che vanno dalla diretta uccisione dei patogeni invasori alla regolazione della risposta immunitaria. L'infezione cronica da *P. aeruginosa* è la principale causa di declino della funzione polmonare e mortalità nei pazienti affetti da fibrosi cistica. I peptidi antimicrobici, in qualità di molecole anti-infiammatorie, potrebbero essere capaci di bloccare l'attività pro-infiammatoria, dovuta all'LPS, attenuando l'infiammazione e così limitando i danni tissutali dell'ospite. Sono stati identificati nuovi potenziali peptidi antimicrobici utilizzando metodi bioinformatici, e ora tali peptidi sono oggetto di studio.

Ipotesi e obiettivi. È ampiamente riportato che molte proteine umane, con funzioni non necessariamente correlate alla risposta immunitaria, contengono peptidi antimicrobici. L'obiettivo della ricerca è quello di studiare la loro struttura, l'attività antibatterica, la capacità di neutralizzare l'LPS e le proprietà anti-infiammatorie dei peptidi umani che sono stati identificati dalla procedura bioinformatica che abbiamo sviluppato.

Metodi. I peptidi antimicrobici umani sono stati prodotti sia tramite sintesi chimica che mediante un'efficiente procedura di produzione in forma ricombinante nel batterio *E. coli*. Questi agenti sono stati ampiamente analizzati per verificare la loro capacità di legare LPS mediante dicroismo circolare, NMR e light scattering e inoltre per la loro tossicità, proprietà antimicrobiche e immunologiche.

Risultati. Le nostre procedure bioinformatiche ci hanno permesso di identificare molti nuovi peptidi antimicrobici criptici nell'uomo, alcuni dei quali hanno dimostrato di avere promettenti proprietà che consentono loro di legare l'LPS. Queste promettenti molecole hanno inoltre un'attività antimicrobica ad ampio spettro sia su batteri Gram positivi che negativi, inclusi diversi ceppi clinici coinvolti nella fibrosi cistica. Inoltre, non sono tossici per diverse linee cellulari umane e hanno una significativa propensione a mitigare l'espressione di citochine e chemochine di macrofagi sia murini che umani trattati con l'LPS. Il prossimo passo sarà quello di

verificare queste proprietà anti-LPS in modelli animali murini affetti da fibrosi cistica.

Spin-off per la ricerca scopi clinici. Abbiamo ottenuto incoraggianti risultati che confermano la nostra idea generale che il proteoma umano rappresenti un ricca risorsa di peptidi antimicrobici. Infatti, alcuni di questi nuovi peptidi mostrano significativi effetti anti-infiammatori e capacità di legare l'LPS molto intriganti. Queste evidenze aprono suggestive prospettive nell'uso in terapia topica di questi peptidi bioattivi. Farmaci anti-infiammatori innovativi sono cruciali per il trattamento della fibrosi cistica così come è necessario possedere un approccio sistematico votato all'identificazione dei peptidi immunomodulatori naturali.

36. Resolvin D1 for Targeting Chronic Lung Inflammation and Infection in cystic fibrosis (*)

Recchiuti A^{1,3}, Mari VC^{1,3}, Codagnone M^{1,3}, Cianci E^{1,3}, Lamolinara A^{2,3}, Iezzi M^{2,3}, Bragonzi A⁴, Moretti P⁵, Nespoli A^{2,3}, Arita M⁶, Romano M^{1,3}

¹Department of Medical, Oral, and Biotechnology Science,

²Department of Medicine and Aging Science, and ³Center on Aging Sciences and Translational Medicine (CeSI-MeT)

"G. d'Annunzio" University of Chieti-Pescara, Chieti, Italy;

⁵Infection and Cystic Fibrosis Unit, Division of Immunology, transplantation, and Infectious Diseases, IRCCS San Raffaele Scientific Institute, Milan, Italy; ⁵Centro Regionale Fibrosi Cistica, Ospedale San Salvatore, Atri (TE), ⁶RIKEN Center for Integrative Medical Sciences, Kanagawa, Japan (FFC#21/2014, Completed)



Antonio Recchiuti, titolare del
progetto di ricerca

Background. Endogenous resolution mechanisms that promote return to homeostasis are defective in cystic fibrosis (CF) leaving inflammation unrestrained with consequent loss of respiratory function, disability, and premature death of patients. Resolvin (Rv) D1 is an endogenous pro-resolution mediator that has entered clinical trials for the treatment of inflammatory diseases. Therefore, its therapeutic potential in CF is of wide interest.

Hypothesis and Objectives. Overarching hypotheses tested in this project are that RvD1 represents a potent therapeutic candidate for limiting lung inflammation and enhancing resolution of *P. aeruginosa* infection in CF. Main objectives are to determine, in preclinical models of CF, if RvD1 a) dampens lung inflammation and damage, b) promotes resolution and clearance of bacterial infection.

Methods. To achieve the research goals, we infected CFTR-/ and wild type mice with the RP73 clinical strain of *P. aeruginosa* and assessed the actions of RvD1 on airway inflammation, lung damage, and bacterial titer.

Results. Oral administration of RvD1 significantly reduced death, lung infection, and neutrophil infiltration in CF and wild

type mice infected with RP73 immobilized in agar beads that gave a persistent infection and a non resolving inflammation reminiscent pathology of CF patients. Also, RvD1 diminished histological signs of lung damage (i.e., parenchymal inflammation, mucus metaplasia, and epithelial hyperplasia). In isolated human cells, RvD1 dampened expression of adhesion molecules on human endothelial cells, stopped leukocyte recruitment, and enhanced phagocytosis of RP73 by neutrophils and macrophages, recapitulating its in vivo actions. In murine lung macrophages sorted during *P. aeruginosa* chronic infection, RvD1 regulated expression of Toll-like receptors and microRNAs (miR-21 and 155) that lower the inflammatory signaling in macrophages. These results unveil roles and mechanisms of action of RvD1 in chronic *P. aeruginosa* infection in CF mice, providing evidence for potent anti-inflammatory, pro-resolution, and tissue protective properties in preclinical models of CF 6.

Spin-off for Research & Clinical Purposes. These results give proof of concepts for the therapeutic use of RvD1 to limit inflammation, promote resolution, and potentiate microbial clearance in CF.

Resolvina D1 per il trattamento dell'infiammazione ed infezione cronica in fibrosi cistica

Ragioni dello studio. Infezioni croniche alle vie aeree provocate da *P. aeruginosa* (PA) ed infiammazione persistente sono le principali cause di progressivo danno polmonare nei pazienti con fibrosi cistica (FC), nei quali i meccanismi endogeni che, normalmente, risolvono l'infiammazione prevenendone la cronicizzazione sono difettosi. Attualmente non esistono terapie specifiche che, al contempo, riducano l'infiammazione e stimolino l'eliminazione dei batteri dalle vie aeree di pazienti FC. La resolvina (Rv) D1 è un composto endogeno che agisce nell'organismo riducendo l'infiammazione, favorendone la risoluzione e stimolando le difese immunitarie contro le infezioni micobiche. L'uso terapeutico di RvD1 in FC è, pertanto, di estremo interesse.

Ipotesi ed obiettivi. L'ipotesi del progetto è che RvD1 sia un agente terapeutico candidato per il trattamento dell'infiammazione cronica e delle infezioni da *P. aeruginosa* in pazienti con FC. L'obiettivo dello studio è, quindi, testarne le azioni in modelli animali preclinici

Metodi. Per testare tali ipotesi e raggiungere gli obiettivi descritti, abbiamo valutato il grado di infiammazione alle vie aeree, il danno polmonare, e la carica batterica in topi privi del gene CFTR infettati con un ceppo clinico di *P. aeruginosa* e trattati con RvD1.

Risultati. La somministrazione orale di RvD1 ha ridotto in maniera significativa la mortalità, il numero di batteri e l'accumulo di globuli bianchi (neutrofili) nei polmoni di topi infetti. RvD1 diminuiva, inoltre, il danno al tessuto polmonare, il muco e lo spessore delle pareti dei bronchioli, segni clinici della patologia polmonare nei pazienti con FC. In cellule umane RvD1 bloccava l'adesione dei leucociti alle cellule dei vasi e stimolava l'eliminazione di *P. aeruginosa* da parte dei neutrofili e dei macrofagi. L'analisi molecolare, infine, ha dimostrato che RvD1 controllava la risposta infiammatoria dei macrofagi agendo su alcune molecole chiave come recettori Toll-like e miRNA (miR-21 e 155). I risultati di questo studio hanno identificato il ruolo ed il meccanismo d'azione di RvD1 in modelli preclinici di infezione ed infiammazione cronica, dimostrandone il potenziale terapeutico in FC.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. Questi risultati forniscono le basi per ulteriori studi preclinici e clinici sull'uso di RvD1 in FC, offrendo nuove opportunità per il trattamento dell'infiammazione ed infezione cronica alle vie aeree, principali causa di danno polmonare invalidante nei pazienti.

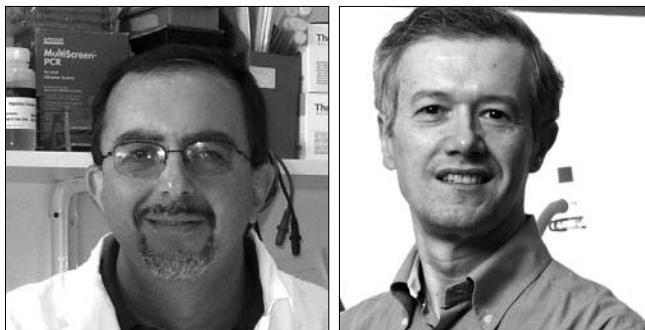
PLENARY SESSION 4

CFTR RESCUE 2

37. Task Force for Cystic Fibrosis (TFCF)

Pedemonte N¹, Bertozzi F², Di Fruscia P², Giacomina F², Sorana F², Zaetta G², Giovani S², Berti F², Rodriguez A², Galietta LJ¹, Bandiera T²

¹U.O.C. Genetica Medica, Istituto Giannina Gaslini (IGG), Genova, ²Istituto Italiano di Tecnologia (IIT), Genova
(FFC/TFCF 2014, In progress)



Luis Galietta, titolare del progetto, e il partner Tiziano Bandiera

Background. *F508del*, the most frequent mutation among patients with cystic fibrosis (CF), causes defective maturation and early degradation of CFTR protein. *F508del* defect can be targeted with chemical compounds known as correctors. *F508del* and other mutations also show a channel gating defect that requires another type of compounds called potentiators. At the moment there are no *F508del* correctors with adequate efficacy. New potentiators are also required.

Hypothesis and objectives. Our project aims at identifying new correctors and potentiators for the functional rescue of mutant CFTR protein.

Methods. We screened a chemical library containing 11,334 compounds with a functional assay. In this way, we found correctors and potentiators with novel chemical scaffold. Chemical analogs of such hits have been synthesized at IIT and evaluated at IGG with functional and biochemical methods. This process has been iterated several times in order to obtain compounds with optimized properties.

Results. We have identified two classes of correctors and one class of potentiators that include compounds with significant activity on primary bronchial epithelial cells from CF patients. Regarding correctors, 415 compounds have been synthesized so far, 315 for class 1 and 100 for class 2. In particular, our work has evidenced compounds belonging to class 1, now grouped in two subclasses, with high efficacy on *F508del*-CFTR at low nanomolar concentrations.

Spin-off for research & clinical purposes. Compounds developed so far represent possible candidates to develop novel drugs for the correction of the CF basic defect.

Task Force for Cystic Fibrosis

Ragioni dello studio. *F508del*, la mutazione più frequente nei pazienti con fibrosi cistica (CF), impedisce alla proteina CFTR di maturare correttamente e di raggiungere la superficie cellulare. Questo difetto può essere trattato con opportuni composti chimici chiamati correttori. *F508del* ed altre mutazioni presentano anche un difetto di attività che invece richiede un tipo diverso di composti chiamati potenziatori. Al momento non esistono correttori di *F508del* sufficientemente efficaci ed è opportuno trovare anche nuovi potenziatori.

Ipotesi e obiettivi. Il nostro progetto si prefigge di trovare

nuovi correttori e potenziatori per il recupero funzionale della proteina CFTR mutata.

Metodi. Abbiamo effettuato uno screening di 11.334 composti che ha permesso l'identificazione di un pannello di correttori e potenziatori con nuova struttura chimica. L'analisi con saggi funzionali e biochimici di tali composti e di nuovi analoghi generati per sintesi ha permesso di identificare le classi chimiche più promettenti.

Risultati. Sono state identificate due famiglie di correttori e una famiglia di potenziatori che comprendono composti particolarmente attivi anche su cellule epiteliali bronchiali di pazienti FC. Per quanto riguarda i correttori, sono stati sintetizzati complessivamente 415 composti (315 di classe 1 e 100 di classe 2). In particolare, il lavoro svolto finora ha evidenziato composti di classe 1, raggruppati ora in due sottoclassi, in grado di funzionare con particolare efficacia a concentrazioni molto basse.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. I composti finora sviluppati rappresentano possibili candidati per lo sviluppo di nuovi farmaci per la correzione del difetto di base nella FC.

38. A kinase-directed approach to rescue functionality of *F508del* CFTR (*)

Venerando A¹, Villella VR², Cozza G^{2,3}, Esposito S², Maiuri L², Pinna LA¹

¹Department of Biomedical Sciences, University of Padova and CNR Institute of Neurosciences, via U. Bassi 58/B, 35131 Padova, Italy, ²European Institute for Research in Cystic Fibrosis, Division of Genetics and Cell Biology, San Raffaele Scientific Institute, via Olgettina 60, 20132 Milan, Italy, ³Department of Molecular Medicine, University of Padova, via G. Colombo 3, 35131 Padova, Italy (FFC#7/2014, Completed)



Andrea Venerando, titolare del progetto di ricerca

Background. CFTR *F508* deletion (*F508del*) is the by far commonest mutation causative of Cystic Fibrosis (CF). *F508del*CFTR undergoes premature degradation subverting proteostasis regulation and generating fragments which have the potential to up-regulate the protein kinase CK2 that, in turn, can favour CFTR fragmentation and reduce CFTR stability.

Hypothesis & Objectives. The project provide the rationale and proof-of-concept for the design of an original and novel therapeutic strategy that restores CFTR channel function by targeting the specific context in which the mutant CFTR channel fails to traffic to the cell surface. It focuses on the derailed CF proteostatic environment that is driven by the mutant channel, instead of on CFTR protein itself. Our strategy induces a self-sustained positive loop that ameliorates the

CF phenotype by inhibiting protein cross linking that blocks autophagy and dampening overactive CK2. The workflow is summarized in the following tasks: 1) Identification and functional characterization of endogenous CK2 targets whose phosphorylation is altered by F508delCFTR; 2) In vivo confirmation of the CK2/CFTR functional link; 3) Analysis of known kinase modulators as a new class of molecules useful to rescue/stabilize F508del-CFTR; 4) In vivo validation of CK2/protein kinases modulators as reagents able to rescue CF phenotypes.

Methods. *In vitro and in vivo models of CF have been used to test whether treatment of CF cells as well as CF mice with potential CK2 modulators are able to play a role in the process leading to premature degradation of F508delCFTR and have the ability to prolong the rescue of F508delCFTR obtained with the proteostasis regulator cysteamine or the corrector VX809.*

Results. *This strategy has shown good promise by using two drugs, cysteamine and epigallocatechingallate, to reverse the key features of the disease [1]. The pharmacological inhibition of protein kinase CK2 prolongs the rescue effect of cysteamine after its washout and it has been used in a single-centre, open-label phase-2 clinical trial.*

Spin-off for research & clinical purposes. *Refining existing leads through a target-driven drug discovery approach will be useful to identify old/new and more efficacious compounds (or combination of compounds) which favour a better and longer rescue of mutant CFTR. The published clinical trial has shown the rightness of our approach that represents a good example of affordable safe drug-repurposing strategy.*

Un approccio chinasi-diretto per ristabilire la funzionalità di F508del-CFTR

Ragioni dello studio. La mancanza di un aminoacido nella proteina CFTR (F508del-CFTR) è la causa più comune della Fibrosi Cistica (FC). La proteina F508del-CFTR viene degradata alterando la regolazione della proteostasi (omeostasi delle proteine) cellulare. I suoi frammenti aumentano l'attività di enzimi detti protein chinasi, in particolare CK2, che a sua volta riducono la stabilità di CFTR.

Ipotesi e obiettivi. Il progetto fornisce il razionale per una strategia terapeutica originale che ristabilisca la funzione di CFTR andando a colpire lo specifico contesto in cui essa non riesce a raggiungere la superficie della cellula dove svolge la sua normale funzione. Il nostro approccio si focalizza sull'ambiente cellulare modificato da F508del-CFTR piuttosto che sulla proteina stessa. La nostra strategia innesca un circolo virtuoso che migliora il quadro clinico FC "spiegrendo" l'enzima CK2 e inibendo le proteine che sono coinvolte in questo processo. Gli obiettivi sono stati: 1) Identificazione e caratterizzazione di substrati CK2 alterati dalla presenza di CFTR mutato; 2) Conferma in vivo della relazione tra CK2 e CFTR; 3) Analisi di noti composti che modulano CK2 utilizzandoli per recuperare/stabilizzare la proteina F508del-CFTR; 4) Validazione in vivo di questi modulatori dell'attività CK2 (o di altre chinasi) come farmaci capaci di recuperare fenotipi FC.

Metodi. Sono stati utilizzati modelli di FC in vitro e in vivo per studiare in che modo il trattamento con potenziali modulatori di CK2 siano capaci di intervenire nel processo che porta alla degradazione della proteina F508del-CFTR e che abbiano la capacità di prolungare l'effetto di recupero della proteina CFTR ottenuto con cisteamina o VX809.

Risultati. Questa nostra strategia si è dimostrata promettente con l'uso di due molecole, cisteamina ed epigallocatechingallato, che sono capaci di contrastare gli aspetti essenziali della malattia. L'inibizione farmacologica della protein chinasi CK2 allunga i tempi di efficacia della cisteamina ed è stata usata in una sperimentazione clinica su pazienti FC ottenendo buoni risultati.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. Ci auspichiamo un perfezionamento dei composti già testati attraverso un approccio computazionale bersaglio-diretto in modo da identificare composti già esistenti e di rapido utilizzo che favoriscono un migliore e più duraturo recupero della proteina F508delCFTR in modo da ottenere in tempi rapidi delle terapie efficaci per i pazienti FC.

39. Dissecting the role of TG2 in cystic fibrosis pathogenesis: identification of possible novel therapeutic targets

Piacentini M¹, Maiuri L²

¹Dipartimento di Biologia - Università di Tor Vergata, Roma,
²IERFC, Istituto Europeo per la Ricerca in Fibrosi Cistica - Istituto Scientifico San Raffaele, Milano (FFC#8/2015, In progress)



Mauro Piacentini, titolare del progetto, con le collaboratrici di ricerca

Background. Transglutaminase 2 (TG2), the most ubiquitous member of the TG family, plays a crucial role in Cystic Fibrosis (CF) pathogenesis. TG2 is a multifunctional enzyme involved in a variety of cellular processes such as cell death, autophagy and inflammation. Of note, TG2 is constitutively up-regulated in CF airways and drives chronic inflammation. This induction of TG2 crosslinking activity leads to the sequestration of proteins in aggresomes, followed by their clearance by autophagy. Autophagy is a cytoprotective mechanism for the degradation of misfolded proteins and damaged organelles and it also contributes to the control of microbial infections. In keeping with this, it has recently been shown that CF is characterized by defective autophagy and impaired clearance of aggresomes.

Objectives. Considering the involvement of TG2 in CF pathogenesis as well as in the autophagic process, the aims of this project are to: 1) characterize the TG2 interactome in the double transgenic mouse as well as in cellular models searching for targets for CF therapy; 2) characterize whether and how ΔF508 CFTR interacts with TG2 binding substrates; 3) unravel whether ΔF508 CFTR/TG2 interaction could influence trafficking and ubiquitination/degradation of CFTR; 4) study the impact on autophagy and mitochondrial homeostasis in CF.

Methods and Results. We developed a new experimental CF mouse model, defective for TG2 and expressing GFPCL3, which is widely used as an in vivo marker for autophagic vesicles. We found that TG2 ablation in ΔF508 CFTR mice improves channel functionality leading to a reduction in the inflammation rate. By using a proteomic approach we identified multi-protein complexes interacting with TG2 protein under normal and autophagic conditions, revealing that many of TG2 interacting proteins, such as the chaperones, might also target the CFTR. To further characterize the multi-protein complexes interacting with mutated CFTR, we performed the analysis of CFTR interacting proteins and their changes in presence and absence of TG2.

Spin off for research and clinical purpose. This study will allow us to dissect the role of TG2 in the trafficking/degradation of mutated CFTR and the associated molecular mechanisms. It might provide a platform to define novel approaches for the treatment of CF patients by identifying protective agents that are able to modulate TG2 activity as well as strategies to restore the autophagic process.

Studiare il ruolo della TG2 nella patogenesi della fibrosi cistica: identificazione di possibili bersagli terapeutici innovativi

Ragioni dello studio. La Transglutaminasi 2 è un enzima multifunzionale coinvolto in numerosi processi cellulari, tra cui morte, autofagia ed infiammazione. La TG2 è costitutivamente iper-attivato nelle vie aeree di pazienti con fibrosi cistica (FC) e contribuisce all'infiammazione cronica. La TG2 determina inoltre il sequestro di diverse proteine in aggregati proteici, i quali sono poi rimossi mediante l'attivazione del processo di autofagia. L'autofagia è un meccanismo necessario alla degradazione di proteine ripiegate in modo scorretto o di organelli cellulari danneggiati. Inoltre, il processo autofagico contribuisce ad eliminare le infezioni batteriche. E' stato dimostrato che cellule e tessuti di FC sono caratterizzati da un difetto di autofagia che favorisce l'accumulo della proteina CFTR mutata.

Obiettivi. Pertanto, intendiamo studiare i meccanismi attraverso i quali la TG2 regola il traffico della proteina CFTR e come questo sia correlato alla modulazione del processo autofagico. Gli obiettivi di questo progetto sono: 1) caratterizzare le proteine che interagiscono con la TG2 con lo scopo di trovare bersagli terapeutici per curare la FC; 2) caratterizzare se e come il CFTR mutato interagisce con i substrati della TG2; 3) svelare se l'interazione fra il CFTR mutato e la TG2 potrebbe influenzare la degradazione della proteina CFTR; 4) studiare l'impatto sull'autofagia.

Metodi e Risultati. Abbiamo inoltre generato un modello murino ad hoc che abbia al contempo caratteristiche genetiche di FC e sia difettivo dell'espressione della TG2. Abbiamo visto che la mancanza della TG2 nei topi migliora la funzionalità del canale e porta ad una riduzione del tasso di infiammazione. Abbiamo inoltre identificato i complessi multi-proteici che interagiscono con la proteina TG2 in condizioni normali e dopo autofagia, rivelando che molte proteine che interagiscono con la TG2 potrebbero farlo con il CFTR mutato. Per caratterizzare ulteriormente i complessi proteici che interagiscono con il CFTR mutato, abbiamo analizzato variazioni nelle proteine che interagiscono con il CFTR in presenza e assenza di TG2.

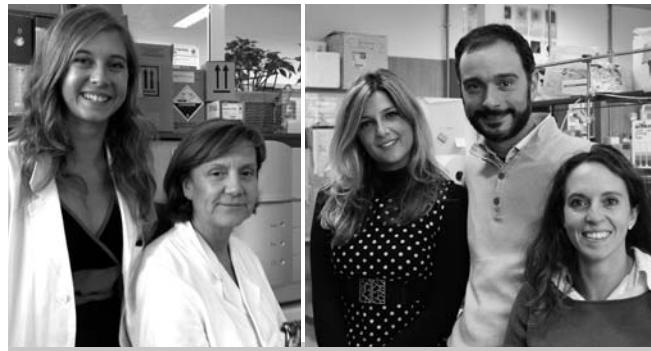
Possibili ricadute per la ricerca e clinica. I topi ottenuti saranno analizzati per comprendere in dettaglio i meccanismi molecolari alla base degli effetti patogenetici determinati dall'enzima TG2 nella FC. Questo studio potrebbe definire nuovi approcci per il trattamento di pazienti con FC identificando agenti protettivi che sono in grado di modulare l'attività della TG2.

40. Identification of molecular targets to reduce the side effect of gating potentiators on the F508del-CFTR plasma membrane stability

Tamanini A¹, Aureli M²

¹Laboratory of Molecular Pathology, Department of Pathology and Diagnostics, University Hospital of Verona; ²Department of Medical Biotechnology and Translational Medicine, University of Milano (FFC#9/2015, In progress)

Background. Cystic Fibrosis (CF) is a life-threatening disease, although therapies have augmented the life span of CF



Anna Tamanini, titolare del progetto, e Massimo Aureli, dell'unità Partner, con le collaboratrici di laboratorio

individuals. The most common CF-causing mutation is the F508del. It produces a protein that does not mature normally and does not traffic to the plasma membrane. Many pharmacological agents have been designed to increase the surface level of mutated CFTR (correctors), as well as its plasma membrane (PM) stability and activity (potentiators). The most important potentiator, VX-770 (Ivacaftor, Kalydeco), was recently approved for clinical use on CF patients with G551D mutation and then, the approval has been expanded for other genotypes which result in gating defects representing a revolutionary step forward in CF treatment. However, the efficacy of this drug seems to be time-limited, in particular for the most common CF-causing mutation F508del.

Hypothesis and objectives. Several factors contribute to the PM CFTR stability, including its compartmentalization in the sphingolipid (SL)-enriched lipid rafts, the formation of multiprotein complex involving ezrin and NHERF1 and in addition, many data provided by the literature show that the phosphorylation state of ezrin is, in turn, regulated by plasma membrane ceramide levels. Based on these findings, we investigated the effects of potentiators and correctors on CFTR PM microenvironment.

Methods. We analysed the SL composition, the phosphorylation state of ezrin and the expression of NHERF1 in CF and non CF bronchial epithelial cell lines, treated or not with VX-809 (corrector) and VX-770 (potentiator). In addition, in both cell lines we evaluated the SL pattern of lipid rafts.

Results. In both cell lines treated with VX-809 and VX-770, we observed an important reduction of phosphorylated ezrin, a reduction of the expression of NHERF1 and only modest differences in the SL pattern. Interestingly, in lipids rafts from both treated cells, we found a marked increase of all SL species, in particular ceramide, glucosylceramide and ganglioside GM3 that could be responsible for the ezrin dephosphorylation and reduction of NHERF1 expression. These preliminary results indicate that combined treatment with corrector/potentiator induces modification in lipid rafts organization in terms of proteins and lipids, that could be responsible for the limited stability of mutated rescued CFTR at PM level.

Spin-off for research & clinical purposes. The results of this study could permit the development of new therapeutic strategies for CF treatment by using SL modulators.

Identificazione di bersagli molecolari per ridurre l'effetto collaterale dei potenziatori sulla stabilità in membrana della F508del-CFTR

Ragioni dello studio. La fibrosi cistica (FC) è caratterizzata da un'esagerata infezione delle vie aeree, responsabile del progressivo declino della funzione respiratoria in questi pazienti. La mutazione più comune è la F508del che codifica per una proteina che non matura normalmente e non è in grado di raggiungere la membrana plasmatica. In questi anni molte molecole sono state prodotte per indurre il passaggio

della proteina mutata alla membrana apicale. Molti lavori hanno dimostrato che la proteina F508del non produce solo un difetto di traffico, ma anche una ridotta conduttanza al cloro rispetto alla proteina normale. Quindi, per correggere efficacemente il difetto della proteina F508del CFTR è necessario l'uso combinato di correttori e potenziatori. Recentemente, è stato dimostrato che alcuni potenziatori, fra cui il VX-770, riducono l'espressione della proteina mutata riportata in membrana. Quindi, è molto importante capire i meccanismi molecolari che portano a questo effetto negativo.

Ipotesi ed obiettivi. È noto che la stabilità in membrana della CFTR è promossa dalla formazione di complessi multi-proteici che coinvolgono le proteine adattatrici, NHERF1 ed ezrin. Interessanti dati in letteratura mostrano che lo stato di fosforilazione di ezrin è regolato dal contenuto di ceramide della membrana plasmatica. Pertanto, la nostra ipotesi è che alcuni potenziatori potrebbero alterare la riorganizzazione degli SLs e modificare lo stato di fosforilazione di NHERF1 ed ezrin. Lo scopo principale del presente progetto è di identificare modulatori degli SLs efficaci nel ridurre l'effetto negativo dei potenziatori sulla funzione della CFTR.

Metodi. Il progetto è stato sviluppato usando cellule FC. L'effetto dei potenziatori di gating è stato così studiato: i) analisi dello stato di fosforilazione di ezrin, espressione di NHERF1 e proteina CFTR; ii) identificazione del pattern SL; iii) determinazione dei livelli di espressione ed attività dei principali enzimi coinvolti nel metabolismo degli SL.

Risultati. I risultati di questo studio mostrano che il potenziatore VX-770 da solo ed anche in combinazione con il correttore Vx-809 riduce la proteina CFTR e le proteine che contribuiscono alla sua stabilità in membrana (NHERF1 ed ezrin) e induce una riorganizzazione dei lipidi di membrana in cellule FC, suggerendo un possibile coinvolgimento degli sfingolipidi (SLs) nel mantenimento della stabilità della CFTR in membrana.

Possibili ricadute per ricerca e clinica Questo progetto intende contribuire alla comprensione dei meccanismi molecolari alla base dell'effetto negativo di alcuni potenziatori sulla CFTR corretta ed utilizzati in trial clinici nei pazienti affetti. I risultati di questo studio potrebbero permettere lo sviluppo di nuove strategie terapeutiche per ristabilire la corretta espressione e funzione della CFTR nei pazienti FC mediante l'uso di modulatori degli SLs.

41. Evaluation of the biological and therapeutic properties of mesoangioblasts-vessel associated progenitor cells- in the cell based therapy of the cystic fibrosis disease (*)

Vezzali C¹, Celesti G¹, Bonfanti C¹, Antonini S¹, Barone C², Pesce E⁴, Tomati V⁴, Maiuri L³, Egan M², Pedemonte N⁴, Bruscia E², Messina G¹

¹University of Milan, Dept. of Biosciences, Milan, Italy; ²Yale University, School of Medicine, New Haven (CT), USA;

³IERFC, Ospedale San Raffaele, Milan, Italy; ⁴Gaslini Institute, Genova, Italy. (FFC#6/2015, In progress)

Background. Since the CFTR gene was cloned in 1989, several strategies for correction of CF lung disease have been explored. Among these, cell-based approaches are under investigation. Endogenous lung stem and progenitor cells have been studied although their contribution in the amelioration of chronic lung diseases is still debated. Stem cell-based approaches to treat CF have not achieved the efficiencies of delivery and engraftment needed for therapy. The reasons rely in the low cell engraftment in the lungs after systemic administration, in the small percentage of differentiated cells in airway epithelia and in the even less percentage of CFTR expression.



Graziella Messina, titolare del progetto di ricerca

Hypothesis and objectives. During our recent works on a class of mouse progenitor cell derived from vessel, named mesoangioblasts4 (mMABs), we observed that mMABs, when systemically transplanted in healthy mice distribute throughout lung, trachea and intestinal epithelium for up to 2 months. The major aim of this study was the evaluation overtime of the engraftment of adult mMABs transplanted in CF mice, in terms of percentage of engraftment and persistence in time. As a parallel purpose, mMABs have been studied in terms of their ability to differentiate in epithelial cells and to express functional CFTR in transplanted CF mice, thus resulting in a general amelioration of the pathology. The whole study aimed to develop a cell therapy approach for patients affected by CF.

Methods. The therapeutic properties of mMABs were tested in F508del-CFTR and KOCfrtm1UNC mouse models. Functional rescue of CFTR was evaluated in vivo by measuring the nasal potential difference across the nasal epithelium (NPD) and ex vivo at intestinal level, by Ussing chamber. Inflammatory status after MAB transplantation was investigated in CF mice by ELISA and qRT-PCR. Moreover, MAB capability to differentiate in different epithelial cells was studied, both in vitro and in vivo, by immunofluorescence and qRT-PCR. Human derived MABs were also tested for CFTR expression and activity, by WB and Ussing chamber, this latter in co-culture with CFTR-mutated Human Bronchial Epithelial cells (HBE).

Results. We observed that mMABs engraft lung, tracheal and intestinal epithelium for up to 6 months in F508del CFTR mice after a single systemic injection. We also verified that mMABs are able even in vitro to potentially express a functional CFTR channel. Most importantly, in vivo, mMAB transplanted KOCfrtm1UNC mice express a functional CFTR. Notably, when transplanted and engrafted in the epithelium, mMAB express typical epithelial markers, thus demonstrating mMAB ability to differentiate in epithelial cells. Finally, the first studies on human MABs demonstrated their ability to express a functional channel.

Spin-off for research & clinical purposes. This project confirmed the therapeutic value of MABs for the development of an efficacious in vivo cell therapy for the cure of CF.

Valutazione degli effetti biologici e terapeutici dei Mesoangioblasti- progenitori

Ragioni dello studio. La Fibrosi Cistica (FC) è la malattia genetica causata da diverse mutazioni nel gene CFTR. Numerosi progressi terapeutici hanno migliorato l'aspettativa di vita dei pazienti affetti da FC, nonostante il trapianto polmonare rimanga ad oggi l'unica opzione negli stadi avanzati della malattia. Le terapie cellulari stanno emergendo come nuovo potenziale approccio curativo, anche se la loro efficacia nella FC non è ancora stata dimostrata. I mesoangioblasti (MAB) sono progenitori cellulari adulti associati ai vasi che hanno dimostrato negli ultimi anni un potenziale terapeutico importante nella cura di una severa patologia genetica muscolare.

Ipotesi e obiettivi. Abbiamo osservato che i MAB quando

trapiantati per via sistemica si integrano nell'epitelio polmonare e intestinale fino a due mesi dal trapianto. Il principale obiettivo di questo studio è stato quindi valutare la capacità di MAB adulti murini (mMAB) di raggiungere, dopo trapianto, l'epitelio delle vie aeree in modelli murini *F508del* CFTR e KOCftrtm1UNC, la capacità dei MAB di differenziare in epitelio e di esprimere un CFTR funzionale. Infine è stato valutato il potenziale dei mesoangioblasti umani (hMAB) i termini di espressione e attività del CFTR. Lo studio ha quindi avuto come scopo principale quello di valutare il potenziale terapeutico di queste cellule dopo trapianto fornendo quindi i dati necessari per un successivo sviluppo di una terapia cellulare per pazienti affetti da FC.

Metodi. I mMAB sono stati trapiantati in topi *F508del* CFTR e KOCftrtm1UNC ed è stata monitorata nel tempo la loro localizzazione nell'epitelio delle vie aeree e dell'intestino, mediante analisi istologiche e di microscopia ad alta risoluzione. I trapianti sono stati analizzati in termini di percentuale e permanenza nel tempo. Inoltre è stato valutato il recupero della corretta funzionalità e localizzazione del canale CFTR tramite saggi elettrofisiologici del canale CFTR *in vitro* e *in vivo*. Parallelamente, è stata studiata la capacità dei mMAB e hMAB a differenziare in cellule epiteliali.

Risultati. Abbiamo osservato che, in seguito a trapianto, i mMAB si localizzano nell'epitelio di polmoni, trachea e intestino di topi *F508del* CFTR e KOCftrtm1UNC fino a 6 mesi, dopo una singola iniezione. Abbiamo anche dimostrato che i mMAB possono esprimere, *in vitro*, il canale CFTR e, dato più rilevante, *in vivo*, i topi CFTR null trapiantati presentano un buon recupero dell'attività del canale. Inoltre, quando trapiantati, i mMAB esprimono i tipici marcatori epiteliali. Infine abbiamo osservato che i hMAB esprimono un CFTR funzionale, rendendoli una popolazione cellulare promettente per lo sviluppo di un'efficace terapia per la cura della FC.

Possibili ricadute per la ricerca e clinica. Questo progetto ha confermato come i MABs possono rappresentare un efficace strumento per definire una valida terapia cellulare per la cura della FC.

42. Assessment and pharmacological correction of abnormalities in bicarbonate (HCO_3^-) and mucus transport in intestinal biopsies and organoids of CF patients (*)

de Jonge H¹, Calder S²

¹Department of Gastroenterology & Hepatology, Erasmus University Medical Center, Rotterdam; ²Cystic Fibrosis Center, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata Verona (FFC#3/2015, Completed)



Hugo de Jonge, titolare del
progetto di ricerca

Background. Most physiological assays used for CF diagnosis and as a biomarker in clinical trials measure CFTR-de-

pendent chloride but not bicarbonate transport. Recent studies however reveal that defective bicarbonate rather than chloride transport is the primary cause of impaired mucociliary clearance in the airways and luminal obstruction in the GI tract in CF.

Hypothesis and objectives. Our major aims were (i) development of new protocols to measure bicarbonate transport in rectal biopsies and intestinal organoids from healthy controls and CF patients; (ii) ex vivo testing of CFTR correctors and potentiators for their ability to restore bicarbonate secretion in these models; (iii) validating the concept that CFTR functional variants associated with pancreatitis and sinusitis but not CF have a specific bicarbonate permeation defect.

Methods. Chloride and bicarbonate transport in non-CF, CF patients (*F508del*) and non-CF pancreatitis patients (*D1152H*) were compared at the level of rectal biopsies and 3D and 2D intestinal organoids using a variety of techniques, including current measurements in Ussing chambers and organoid swelling assays. Moreover, we studied the ability of specific enzymes (WNK/SPAK kinases) to switch CFTR from a chloride into a bicarbonate conductive state.

Results. The bicarbonate secretion was 4-6 fold lower relative to chloride secretion in undifferentiated organoid monolayers from non-CF, and absent in *F508del* organoids. The corrector VX-809 and potentiator VX-770 rescued bicarbonate secretion in *F508del* organoids more efficient than chloride secretion (3-fold difference). Remarkably, bicarbonate and chloride secretion were of comparable magnitude in non-CF rectal biopsies, suggesting the operation of a bicarbonate importer in native colon that is low or absent in undifferentiated organoids. Calcium induced bicarbonate secretion was reduced much stronger than chloride secretion in biopsies from *D1152H* patients. The WNK-SPAK pathway was operative in non-CF organoids and stimulated by low intracellular chloride conditions. Experiments measuring the effect of *D1152* and other variants before and after organoids differentiation are in progress.

Spin-off for research & clinical purposes. The protocols developed may facilitate future preclinical testing of novel CFTR repair molecules for their ability to restore bicarbonate transport in organoids from individual CF patients ("personalized medicine").

Valutazione e correzione farmacologica di anomalie del trasporto di bicarbonato (HCO_3^-) e muco in biopsie intestinali e organoidi di pazienti affetti da FC

Background. La maggior parte dei test fisiologici utilizzati per la diagnosi di fibrosi cistica o come esito negli studi clinici misurano il trasporto di cloro CFTR-dipendente ma non di bicarbonato. Tuttavia recenti studi rivelano che un difettivo trasporto di bicarbonato, piuttosto che di cloro è la principale causa di compromissione dell'attività mucociliare delle vie aeree e dell'ostruzione luminale del tratto gastrointestinale nei pazienti con fibrosi cistica (FC).

Ipotesi e obiettivi. I nostri obiettivi principali sono stati (i) lo sviluppo di nuovi protocolli per la misurazione del trasporto di bicarbonato in biopsie rettali e organoidi intestinali da controlli non affetti da FC e pazienti FC;(ii) test ex vivo con correttori e potenziatori di CFTR per valutare la loro capacità di ripristinare la secrezione di bicarbonato;(iii) validare l'ipotesi che varianti funzionali di CFTR associate a pancreatite e sinusite, ma non a FC, portino al difetto di permeazione del bicarbonato.

Metodi. Il trasporto di cloro e bicarbonato in non-FC, in FC (*F508del*), e in pazienti non-CF con pancreatite (*D1152H*), sono stati confrontati a livello di biopsie rettali, mediante misurazioni di corrente in Camere di Ussing, e colture di organoidi intestinali con il test di rigonfiamento. Inoltre, è stata studiata la capacità di specifici enzimi (WNK/SPAK) di far passare CFTR da uno stato di conduzione del cloro ad uno di trasporto del bicarbonato.

Risultati. Il rilascio di bicarbonato è 4-6 volte più basso rispetto alla secrezione di cloro in colture di organoidi indifferenziati di soggetti non-FC ed è assente in soggetti FC con mutazione F508del, ma dopo trattamento con il correttore VX-809 e il potenziatore VX-770 si osserva il recupero della secrezione di bicarbonato in tali soggetti (di 3 volte). Inoltre, le secrezioni di bicarbonato e cloro paragonabili in biopsie rettali di soggetti non-FC, sono risultate basse o assenti negli organoidi indifferenziati degli stessi. La secrezione di bicarbonato è risultata ridotta rispetto la

secrezione di cloro nelle biopsie di pazienti con D1152H. Sono tutt'ora in corso esperimenti che misurino l'effetto di D1152H e di altre varianti, sulla secrezione di cloro e bicarbonato in organoidi intestinali, prima e dopo il loro differenziamento.

Spin-off, scopi clinici e di ricerca. I protocolli sviluppati possono facilitare in futuro test pre-clinici per lo studio di nuove molecole correttive di CFTR basandosi sulla loro capacità di ripristinare il trasporto di bicarbonato in organoidi ottenuti da pazienti FC ("medicina personalizzata").

PLENARY SESSION 5

THINKING ABOUT THE FUTURE OF CF RESEARCH

CF Inflammation: achievements and perspectives. Why so much research and so negligible clinical application?

James Chmiel

*Division of Pediatric Pulmonology and Allergy/Immunology,
Case Western Reserve University School of Medicine,
University Hospitals Cleveland Medical Center, Rainbow
Babies and Children's Hospital, Cleveland*

CFTR function recovery: achievements and perspectives. Openings and possible pitfalls of the new therapies

Christine Bear

*Programme in Molecular Structure and Function, Hospital
for Sick Children, Toronto, Canada; Department of
Biochemistry, University of Toronto; Department of
Physiology, University of Toronto*

PARALLEL POSTER SESSION 2

Posters C – TARGETING CFTR

43. Relationship between mitochondria and F508del-CFTR in cystic fibrosis

Atlante A

*Institute of Biomembranes and Bioenergetics (IBBE), CNR,
Bari, Italy (FFC#1/2015, In progress)*



Anna Atlante, a destra, con una collega di ricerca

Background. It is now a fact that oxidative stress plays a pivotal role in the pathogenesis of cystic fibrosis (CF), as well mitochondria - besides its primary function in the generation of ATP via oxidative phosphorylation, essential for cell life - participate in many cellular functions, including the control of free radical species types and levels, then coming to play a major role in cellular redox homeostasis. Discoveries on mitochondria function in CF date back to over 30 years ago, but to date still little is known about the link existing - if there is - between mitochondria and F508del-CFTR in this insidious disease. Thus, given that cell redox balance is regulated by complex processes, which converge exclusively upon mito-

chondria, it is strictly necessary to investigate on the molecular mechanisms underlying these processes in CF.

Hypothesis and objectives. i) To characterize mitochondrial function in CF cells; ii) To clarify whether there is a 'relationship' between mitochondrial activity and F508del-CFTR dysfunction by the use of "correctors", small molecules that restore the activity of F508del CFTR on the cell surface.

Methods. i) Mitochondrial activity, by means of polarographic and photometric analysis and ii) oxidative stress, using fluorescent dyes or probes, were examined. The experiments were made by using the homogenate from secondary human CF cells.

Results. We find that oxygen consumption, electrochemical transmembrane potential generation, adenine nucleotide translocator (ANT)-dependent ADP/ATP exchange and both mitochondrial respiratory Complex I and IV activities are impaired in CF cells, while both mitochondrial reactive oxygen species production and membrane lipid peroxidation increase. Importantly, we find that treatment with the correctors VX-809 and TMA, which are able in restoring the defective F508del-CFTR chloride efflux function - and per sé are without any direct effect on the main mitochondrial activities -, partially restore the mitochondrial failure of CF cells.

Spin-off for research & clinical purposes. The present work up to now provides an essential prerequisite for future research aimed i) at understanding the molecular mechanisms responsible for the interaction between CFTR activity deficiency and mitochondria which influences the phenotype of CF and ii) to identify the proteins primarily responsible for the cell redox imbalance and, in this way, iii) to reveal potentially novel targets for CF therapy.

Correlazione tra mitocondri e F508del-CFTR nella fibrosi cistica

Ragioni del progetto. Lo stress ossidativo – condizione causata dall'eccessiva produzione di radicali liberi (molecole che danneggiano tutto ciò con cui vengono a contatto nella cellula) da parte dell'organismo che non riesce più a smaltirli normalmente – ha gravi conseguenze per la salute e, in particolare, gioca un ruolo fondamentale nella fibrosi cistica (FC). È noto che i mitocondri – organelli, presenti in ogni cellula del nostro organismo ed essenziali per la vita della cellula, in grado di produrre energia in grandi quantità –, controllando i tipi e i livelli di radicali, svolgono un ruolo importante nell'omeostasi ossido-riduttiva cellulare, situazione che dipende dal bilancio tra la generazione dei radicali liberi e i sistemi antiossidanti, che funzionano come "spazzini" dei radicali stessi. Gli alterati meccanismi molecolari che sono alla base di questi processi in FC non sono noti.

Ipotesi e Obiettivi. i) Caratterizzare la funzionalità dei mitocondri in FC; ii) Chiarire se esiste una 'relazione' tra l'attività mitocondriale e la disfunzione del F508del-CFTR mediante l'uso dei "correttori", molecole che ripristinano l'attività di F508del-CFTR sulla superficie cellulare.

Metodi. Sono stati esaminati i) la funzionalità mitocondriale, mediante analisi polarografica e fotometrica; ii) lo stress ossidativo, utilizzando coloranti e sonde fluorescenti. Le sperimentazioni sono state condotte sull'omogenato di cellule FC secondarie umane.

Risultati. È stata evidenziata una diminuzione della funzionalità dei mitocondri in cellule FC. In dettaglio: i) il consumo di ossigeno, ii) la generazione del potenziale eletrochimico transmembrana, iii) l'attività del carrier ADP/ATP e iv) le attività dei complessi respiratori I e IV sono alterati. Al contrario, la produzione mitocondriale di radicali liberi e la perossidazione - cioè il meccanismo attraverso il quale i radicali possono danneggiare le strutture biologiche - dei lipidi di membrana aumentano. Il trattamento con i correttori VX-809 e TMA ripristina in parte il 'guasto' mitocondriale nelle cellule FC.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. Il lavoro condotto fornisce un requisito essenziale per la ricerca futura, finalizzata i) alla comprensione dei meccanismi molecolari responsabili dell'interazione tra il funzionamento del F508del-CFTR e i mitocondri e ii) all'identificazione di proteine responsabili dello squilibrio redox cellulare, obiettivi potenzialmente innovativi per la terapia della FC.

44. RNF5/RMA1 ubiquitin ligase as a drug target for mutant CFTR rescue

Pedemonte N¹, Sondo E¹, Falchi F², Tomati V¹, Cavalli A²

¹U.O.C. Genetica Medica, Istituto Giannina Gaslini, Genova, Italy, ²Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie, Università di Bologna, Italy (FFC#2/2015, In progress)



Andrea Cavalli, titolare del progetto e Nicoletta Pedemonte, a capo dell'unità Partner

Background. Cystic fibrosis (CF) is a severe hereditary disease caused by mutations that abolish the function of a membrane

protein (named CFTR) needed to transport chloride ions. The most frequent mutation in CF patients is the deletion of phenylalanine 508 (F508del), causing the mistrafficking of CFTR that remains trapped in the endoplasmic reticulum and is subsequently degraded. The trafficking defect can be rescued by molecules called correctors, however, the efficacy of known compounds is reduced. By studying proteins that interact with CFTR we identified a protein named RNF5 whose inhibition can lead to mutant CFTR rescue both *in vitro* and *in vivo* using animal models.

Hypotesis and objectives. The aims of the present project are: 1. to identify, by means of computational studies, small drug-like molecules able to inhibit RNF5 activity; and 2. to analyze the molecular mechanisms involved in CFTR rescue following RNF5 suppression.

Methods. The project relies on a computational approach, based on homology modeling followed by high-throughput protein-ligand docking to virtually screen large collection of chemical compounds. Biological evaluation of selected compounds is performed by means of biochemical, microfluorimetric and electrophysiological techniques to measure CFTR-mediated ion transport activity.

Results. We generated a model of the RING domain of RNF5 ligase. The model was used as a template to virtually screen a large library of compounds (>4M) to identify compounds able to inhibit RNF5 ligase activity. In this way, we highlighted a set of compounds (about 2000 molecules) that possibly interact with RNF5. Selected compounds were bought from commercial sources and subsequently tested on CFBE410-cells for their ability to rescue F508del-CFTR trafficking defect. We identified two molecules active as F508del correctors (named 2A2 and 5H2). Analysis of the mechanism of action of the molecules confirmed that 2A2, but not 5H2, inhibits RNF5 ligase activity. Further validation of the activity of the molecules revealed that 2A2 increases F508del-CFTR activity in primary human bronchial epithelia from CF patients.

Spin-off for research & clinical purposes. This study will allow us to identify novel treatments with improved efficacy and selectivity, aimed to correct the basic defect associated to F508del-CFTR (45-50% of CF patients in Italy).

La ubiquitina ligasi RNF5/RMA1 quale nuovo bersaglio terapeutico per il recupero della proteina CFTR mutata

Ragioni dello studio. La fibrosi cistica (FC) è una malattia ereditaria causata da mutazioni che provocano la perdita di funzione di una proteina (CFTR) che trasporta ioni cloruro. La mutazione più frequente è la delezione della fenilalanina 508 (F508del), che blocca la maturazione della proteina, che viene quindi degradata. Il difetto di maturazione può essere trattato con molecole chiamate correttori, tuttavia, la loro efficacia è ridotta. Studiando le proteine che interagiscono con CFTR si è visto sia *in vitro* su cellule sia *in vivo* su un modello animale che la soppressione di una proteina chiamata RNF5 è in grado di recuperare la proteina CFTR mutata.

Ipotesi e obiettivi. Il presente progetto si propone di identificare, attraverso studi computazionali, piccole molecole chimiche farmaco-simili in grado di inibire l'attività di RNF5, e di studiare i meccanismi molecolari implicati nel recupero di CFTR indotto dalla soppressione di RNF5, al fine di fornire le basi per lo sviluppo di nuove terapie per la fibrosi cistica.

Metodi. Il progetto si basa su un approccio computazionale che permette di costruire un modello 3D della proteina di interesse e di utilizzarlo come "stampo" per identificare composti chimici in grado di interagire con esso. La successiva valutazione biologica dei composti così identificata permette di misurare l'attività di trasporto ionico di CFTR attraverso tecniche biochimiche, microfluorimetriche ed elettrofisiologiche.

Risultati. È stato generato un modello della proteina RNF5 che è stato utilizzato come "stampo" per effettuare

uno screening virtuale di milioni di composti chimici, per identificare molecole in grado di inibire RNF5. In questo modo, abbiamo selezionato circa 2000 molecole che sono state testate su cellule CFBE41o- per valutare la loro abilità di correggere il difetto di maturazione di F508del-CFTR. Abbiamo identificato due molecole attive come correttori di F508del-CFTR (chiamate 2A2 e 5H2). L'analisi del meccanismo di azione dei composti ha confermato che 2A2, ma non 5H2, inibisce l'attività di RNF5. Un successivo studio ha rivelato che 2A2 è in grado di aumentare la funzione di F508del-CFTR anche su epitelii bronchiali derivati da colture primarie di cellule di pazienti.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. Questo studio ci consentirà di identificare trattamenti più efficaci e selettivi, mirati al ripristino della funzione della proteina mutata F508del (presente nel 45-50% dei pazienti in Italia).

45. Anakinra in cystic fibrosis: from targeting pathogenic inflammation to correcting CFTR defect

Pariano M, Vasiliou O, Galosi C, Puccetti M, Borghi M, Romani L

Department of Experimental Medicine, University of Perugia, Perugia, Italy (FFC#9/2016, New)



Luigina Romani, terza da sinistra, con il suo gruppo di ricercatori

Background and rationale. The most common CFTR mutation results in the production of a misfolded protein that is degraded by the ubiquitin-proteasome system during biogenesis. Thus, regulator of cellular protestasis, may alter trafficking of ΔF508-CFTR and favour its plasma membrane targeting and stability.

Hypothesis and objectives. Building upon the results from our past project—indicating that Anakinra, a recombinant, non-glycosylated version of human IL-1 receptor I antagonist, proved to be efficacious in a broad spectrum of auto-inflammatory diseases—is capable of reducing pathogenic inflammation in CF through the autophagic/proteasomal degradation system, we are proposing the evaluation of anakinra as a regulator of CFTR protein via proteostasis.

Essential methods. The project includes murine and human studies conducted

1. *In vitro*, to assess the effect of anakinra on expression, cellular localization and functional activity of ΔF508-CFTR and the molecular mechanisms behind anakinra's rescuing activity in ΔF508-CFTR-transfected cells and HBE cells from ΔF508-CFTR patients and controls., and

2. *In vivo*, in ΔF508 mutant mice to define the pharmacology of anakinra either alone or in combination with ivacaftor and comparative analysis versus lumacaftor.

Preliminary results. On investigating whether anakinra would affect expression and function of mature CFTR, we have found that Anakinra increased cellular expression of mature ΔF508-

CFTR, reaching levels similar to controls at the plasma membrane sit, in CFBE41o-stably expressing the ΔF508-CFTR and increased chloride transport in HBE cells ΔF508-CFTR patients

Expected results and their significance. This study may provide the foundation for repurposing a drug approved for other indications for the treatment of CF.

Anakinra, un farmaco promettente nella fibrosi cistica: da anti-infiammatorio a correttore

Ragioni dello studio. Nel corso dei nostri precedenti studi, volti a capire e colpire i meccanismi infiammatori nocivi – causa di un pericoloso circolo vizioso tra infezione ed infiammazione aerea nella fibrosi cistica – abbiamo notato che anakinra (un potente farmaco anti-infiammatorio, già usato nel trattamento di varie patologie umane e con ottima tollerabilità e scarsa tossicità), era in grado di interferire con i processi di controllo di qualità intracellulari, quali l'autofagia e la degradazione proteosomica ubiquitina-dipendente.

Ipotesi e obiettivi. Essendo questi meccanismi coinvolti nel traffico intracellulare della proteina ΔF508, in questo studio proponiamo di valutare la capacità di anakinra di modificare il traffico intracellulare e ripristinare la funzionalità della proteina ΔF508 mutata.

Metodi essenziali. Lo studio è condotto *in vitro* su linee cellulari portatrici del gene ΔF508 ed HBE da pazienti con la mutazione ΔF508-CFTR al fine di valutare la capacità di anakinra, da sola e/o con ivacaftor e lumacaftor, di modificare traffico, espressione ed attività funzionale di DF508-CFTR nonché *in vivo* in topi con la mutazione ΔF508-CFTR.

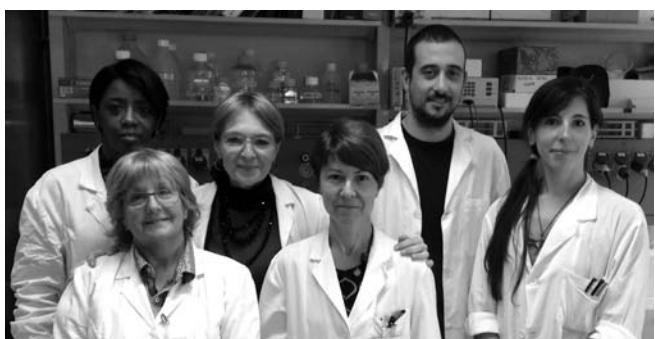
Risultati preliminari. I dati preliminari suggeriscono che anakinra aumenta sia l'espressione che la funzionalità di ΔF508-CFTR in linee cellulari ed in cellule epiteliali da pazienti con il gene ΔF508-CFTR mutato.

Risultati attesi e loro significato. Il nostro studio dovrebbe fornirci indicazioni precliniche sull'efficacia di anakinra nel promuovere l'attività di canale della proteina CFTR mutata. Se così fosse, avremmo un farmaco da usarsi in CF per correggere il difetto di base e diminuire il processo infiammatorio allo stesso tempo, con il vantaggio di potere usare un farmaco già noto e sperimentato ampiamente in altre patologie umane.

46. Myriocin potential as a phenotype-modifying therapeutical in cystic fibrosis

Caretti A¹, Bonezzi F¹, Torelli R³, Bugli F³, Sanguinetti M³, Cirilli N⁴, Ghidoni R¹, Gallina A², Signorelli P¹

¹Biochemistry Unit & ²Cell Biology Unit, Health Sciences Department, University of Milan, Milan; ³Institution Catholic University of Sacred Heart, Rome; ⁴Institution Cystic Fibrosis Regional Reference Center, United Hospitals, Salesi Childrens' Hospital Mother, Child Department, Ancona (FFC#11/2016, New)



Paola Signorelli, terza da sinistra, con i ricercatori e le ricercatrici di laboratorio

Background and rationale. Chronic inflammation in Cystic Fibrosis (CF) is sustained by accumulation in the airways of ceramide, an inflammatory lipid mediator. In the long run antibiotics and immunostimulatory drugs fail to eradicate CF airway pathogens, that prevail on compromised immune defenses. We demonstrated that myriocin, an orphan drug, reduces ceramide accumulation and promotes a response to oxidative stress. Other than in CF, we proved that myriocin protects from reperfusion damage after ischemia and in Retinitis Pigmentosa, a neurodegenerative disease that shares with CF the formation of pro-oxidative unfolded protein aggregates.

Hypothesis and objectives. Our aim is to identify the mechanism underlying myriocin immunomodulatory and antimicrobial action and to assess its therapeutic potential ex vivo in bronchial epithelial cells and blood-derived monocytes from CF patients. We speculate that the antioxidant/pro-survival mechanisms promoted by myriocin could enhance intracellular proteostasis and favor CFTRmut membrane expression, alone or in combination with corrector drugs.

Essential methods. Myriocin-induced potentiation of antimicrobial activity will be investigated in monocytes isolated from CF patients' peripheral blood; a combinatorial treatment with cysteamine will be evaluated. The potential of a combinatorial treatment with myriocin plus Lumacaftor will be evaluated ex vivo on CF bronchial epithelial cell lines.

Preliminary results. Myriocin, administered *in vivo* via nanocarriers, reduces *Cftr tm1UNCTgN(FABPCFTR)* mice pulmonary inflammation and ameliorates host response to *P. aeruginosa* and *A. fumigatus* infection, significantly limiting lung colonization, and corrects the defective ability to kill internalized pathogens in CF epithelial cells, by restoring the expression of TLR4 and NOD2, which are downregulated in CF and correlate with infection susceptibility. Myriocin activates the antioxidant Nrf2/HO1 response, which is downregulated in CF. Myriocin changes lipid composition thus modulating membrane fluidity and endocytosis.

Expected results and their significance. We expect to obtain an additive or synergistic effect by using myriocin with current CF therapeutics, cysteamine and Lumacaftor. We predict that myriocin can enter the armory for personalized CF therapies once its mechanism of action will be clarified, to better identify effective pharmacological combinations and target patients.

Potenziale terapeutico della miriocina quale modulatore del fenotipo patologico in fibrosi cistica

Ragioni dello studio. L'accumulo del mediatore lipidico ceramide contribuisce significativamente all'infiammazione cronica caratteristica delle vie aeree dei pazienti Fibrosi Cistica (FC). I farmaci ad oggi utilizzati nella terapia di FC non consentono di debellare le infezioni a causa dello stato di compromissione delle difese immunitarie dovuto al cronicizzarsi dell'infiammazione. La miriocina è una molecola fungina, usata nella medicina tradizionale cinese. La ricerca dell'ultimo decennio avalla il suo ruolo nel controllo del metabolismo energetico cellulare e nell'attivazione di programmi di sopravvivenza allo stress. Le cellule con CFTR mutato vanno incontro ad un forte stress dovuto non solo alla mancanza funzionale del canale ma anche all'accumulo di aggregati di proteine alterate. Una delle nuove terapie farmacologiche in uso clinico per la cura di pazienti FC si basa sull'effetto anti-ossidante della cisteamina, che favorirebbe un meccanismo di eliminazione del materiale anomalo, chiamato autofagia. L'effetto tossico dello stress è proprio di un grande numero di malattie genetiche, chiamate nel loro insieme, proteinopatie.

Ipotesi ed obiettivi. L'obiettivo principale del progetto è di arrivare a conoscere il meccanismo con cui la miriocina esercita le sue azioni antiinfiammatorie ed antimicrobiche e di ve-

rificare se la miriocina possa cooperare con altri farmaci quali cisteamina o lumacaftor nel recupero funzionale del CFTR.

Metodi essenziali. Questi studi saranno condotti su cellule epiteliali bronchiali FC e su monociti derivanti da sangue di pazienti FC, quale modello efficace per prospettare un futuro uso clinico della molecola. In cellule trattate, sarà valutata la capacità della miriocina di potenziare la risposta di difesa dall'infezione e la capacità di migliorare l'efficacia terapeutica della cisteamina o del correttore Lumacaftor.

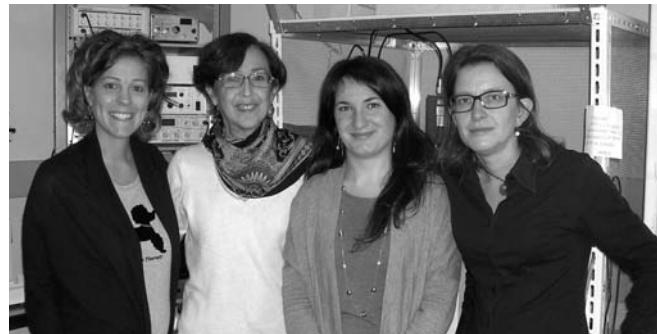
Risultati preliminari. Il nostro gruppo ha recentemente dimostrato l'uso terapeutico di miriocina in FC ed in un'altra proteinopatia (Retinite Pigmentosa). Abbiamo dimostrato che miriocina riduce significativamente l'infiammazione e migliora la risposta di difesa contro infezioni batteriche e fungine in modelli sperimentali di Fibrosi Cistica *in vivo* ed *in vitro*.

Risultati attesi e loro significato. Il nostro studio si propone di ottenere dati sufficienti a proporre l'utilizzo della miriocina in terapie personalizzate, quale farmaco unico o in combinazione con cisteamina o lumacaftor.

47. Properties of airway mucus in cystic fibrosis: their modification by changes in the activity of CFTR and after application of bicarbonate

Zegarra-Moran O

U.O.C. Genetica Medica, Istituto Giannina Gaslini, Genova (FFC#12/2016, Continuation)



Olga Zegarra-Moran, seconda da sinistra, con le ricercatrici di laboratorio

Background and rationale. Most of the health problems experienced by cystic fibrosis (CF) patients arise from a thick mucus. We have recently found that the viscoelastic properties of CF airway mucus can be improved either by applying bicarbonate directly or by increasing the activity of the mutated F508del protein with lumacaftor corrector. We hypothesise that probably lumacaftor effect is due to an increased bicarbonate secretion across the corrected F508del protein.

Hypothesis and objectives. Specifically, we aim here to: 1) understand the mechanisms by which lumacaftor improves the properties of mucus. We will use different approaches, such as applying bicarbonate directly to the surface epithelium at different concentrations or inhibiting the enzyme that produces bicarbonate, measuring mucus pH (that changes if bicarbonate is increased) and the concentration of bicarbonate after treatment with lumacaftor, and analysing the effect of other correctors on the properties of mucus. 2) We will set up the technique to culture intestinal organoids (obtained from CF patients biopsies) as polarized epithelia able to secrete mucus and measure the mucus properties in this tissue before and after treatment with correctors.

Essential methods. To these aims we will measure the displacement of fluorescent nanobeads embedded in mucus from primary epithelia obtained from CF patients before and after application of the proposed treatments.

Preliminary results. The results of aim 1) will permit to determine whether the effect of lumacaftor is mediated by bicarbonate, and whether direct application of bicarbonate can improve the properties of mucus near normal levels and which is the best concentration to attain it. In addition, we will determine whether the effect of bicarbonate is direct or mediated by pH change of the mucus.

Expected results and their significance. This information will allow the design of clinical trials for CF patients, using inhaled bicarbonate, with better probability to succeed. Bicarbonate might represent a mutation-independent and low-cost therapy to clear out the mucus that accumulates in the airways, reduce the risk of infections and improve lung function. The results of aim 2) will tell us whether we can use patients intestinal biopsies to measure the effect of different treatments on mucus properties, and if these results are similar to those measured analysing mucus from the airway epithelia. The study of organoid mucus will permit to develop a personalized analysis of the effect of new drugs optimally suited to improve mucus properties for an individual patient.

Proprietà del muco delle vie aeree in fibrosi cistica: modifiche dovute a cambiamenti nell'attività di CFTR e dopo applicazione di bicarbonato

Ragione dello studio. La maggior parte dei problemi dei pazienti colpiti da fibrosi cistica (FC) dipende dalla presenza di un muco molto denso e difficile da eliminare con la tosse. Noi abbiamo recentemente dimostrato che le proprietà viscoelastiche del muco FC (quelle che lo rendono così spesso) possono migliorare dopo l'applicazione diretta di bicarbonato o quando si ricopre l'attività della proteina F508del mutata con il correttore lumacaftor, ipoteticamente in seguito all'aumento di secrezione di bicarbonato.

Ipotesi e obiettivi. Proponiamo quindi di: 1) capire il meccanismo attraverso il quale lumacaftor migliora le proprietà del muco. Useremo diversi approcci per riuscirci, come aggiungere direttamente bicarbonato sulla superficie dell'epitelio a diverse concentrazioni o inibire l'enzima che produce il bicarbonato, misurare il pH del muco trattato (che deve cambiare se il bicarbonato aumenta) e la concentrazione di bicarbonato dopo trattamento con lumacaftor o con altri correttori. 2) Metteremo a punto la tecnica per coltivare organoidi intestinali (ottenute da biopsie di pazienti FC) come epitelii polarizzati capaci di secerne muco e misureremo le proprietà del muco in questo tessuto prima e dopo trattamento con correttori di CFTR.

Metodi essenziali. Analizzeremo il movimento di centinaia di biglie introdotte nel muco ottenuto da epitelii FC per stabilire quanto il muco sia denso e se migliora con i trattamenti proposti (bicarbonato, lumacaftor, altri correttori).

Risultati preliminary. Il risultato di questa ricerca ci permetterà di stabilire se il meccanismo mediante il quale lumacaftor agisce sul muco è mediato dal bicarbonato, se l'applicazione diretta di questo anione possa migliorare le sue proprietà e se l'effetto del bicarbonato è diretto o dovuto ad una modifica dell'acidità del muco.

Risultati attesi e loro significato. Quest'informazione permetterà di progettare studi clinici per i pazienti FC con migliori probabilità di successo. Il bicarbonato rappresenterebbe una terapia mutazione-indipendente e a basso costo, per liberare le vie aeree dal muco denso e migliorare la funzionalità polmonare. Il risultato del nostro secondo obiettivo ci permetterà di stabilire se sia possibile usare biopsie intestinali di pazienti per misurare l'effetto di diverse terapie sulle proprietà del muco e se questi risultati sono simili a quelli ottenuti studiando il muco delle vie aeree. Questo ci permetterà di sviluppare un'analisi personalizzata dell'effetto di nuove terapie idonee a migliorare le proprietà del muco di un dato paziente.

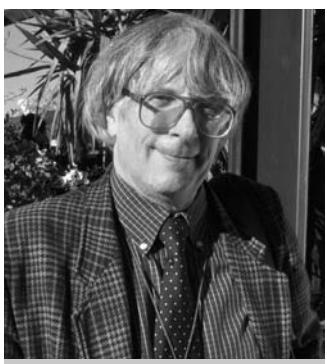
Posters D – INFLAMMATION

48. MicroRNA therapeutics in CF: targeting CFTR and inflammation networks (MicroRNA-CF)

Gambari R¹, Corradini R²

¹Dipartimento di Scienze della vita e Biotecnologie, Sezione di Biochimica e Biologia Molecolare, Università di Ferrara,

²Dipartimento di Chimica, Università di Parma (FFC#3/2016, New)



Roberto Gambari, titolare del
progetto di ricerca

Background. Epigenetic regulation of expression of defective CFTR protein by microRNAs (a class of short non-coding RNAs exhibiting key roles in the control of gene expression) has been reported in the literature and explored by different groups in CF primary bronchial epithelial cells *in vitro* or from

bronchial brushings *ex vivo*. In addition, microRNAs are expected to be involved in controlling the expression of proteins of the CFTR interactome. Modulation of miRNA expression can be achieved by the use of pre-miRNAs as well as using antagonists, including peptide-nucleic acids (PNAs).

Hypothesis and objectives. The objectives of MicroRNA-CF are: (a) identification of microRNAs highly expressed in primary epithelial cells and involved in regulation of expression of CFTR and CFTR-interacting proteins; (b) study of changes of the gene expression in CF using PNAs targeting microRNAs; (d) development and biological validation of novel PNA-based molecules interfering with multiple microRNAs; (e) development of a PNA-based "masking strategy" targeting miRNA binding sites for CFTR stabilization.

Key methods. Global microRNA expression will be obtained by microarray analyses; identification and validation of microRNAs/mRNAs networks involved in CF will be performed using bioinformatics tools. Modulation of microRNA activity using antagonists and pre-miRNAs will be developed targeting CFTR and CFTR interactome. PNA-based antagonist molecules and suitable delivery systems will be developed.

Preliminary results. A list of miRNAs targeting CFTR is already available and validated, including miR-145, miR-223, miR-494, miR-509-3p and miR-138. We have already demonstrated to be able to modify miRNA activity using Peptide Nucleic Acids (PNAs).

Expected results. The major output of MicroRNA-CF is the identification of microRNA and mRNA targets of biomolecules of interest in translational medicine, with the objective of modifying gene expression of cystic fibrosis cells, and, in particular, of decreasing the expression of biological activi-

ity of miRNAs involved in the negative control of CFTR and CFTR-interacting proteins. This therapeutic goal is very important for the treatment of cystic fibrosis.

Strategie terapeutiche in Fibrosi Cistica basate su MicroRNA in grado di modulare CFTR e infiammazione (MicroRNA-CF)

Ragioni del progetto. La regolazione epigenetica dell'espressione della proteina difettiva CFTR da parte dei microRNA (una classe di piccole molecole di RNA non codificanti che hanno un ruolo chiave nel controllo dell'espressione genica) è stata riportata in letteratura ed è già stata studiata da numerosi gruppi di ricerca, in vitro nelle cellule epiteliali bronchiali primarie ed ex vivo su brushing bronchiali. I microRNA inoltre sembrano essere coinvolti anche nel controllo dell'espressione di proteine dell'interattoma di CFTR. La modulazione dell'espressione dei miRNA può essere ottenuta mediante l'uso di pre-miRNA, nonché utilizzando antagomiRs, tra cui quelli basati su acidi peptido-nucleici (PNA).

Ipotesi e obiettivi. Gli obiettivi del progetto MICRORNA-CF sono: (a) l'identificazione di microRNA espressi ad alto livello nelle cellule epiteliali bronchiali primarie e studio del loro effetto nella regolazione dell'espressione di CFTR e delle proteine che interagiscono con CFTR; (b) lo studio delle variazioni di espressione genica in CF utilizzando PNA in grado di colpire miRNA; (c) lo sviluppo di nuove molecole basate su PNA in grado di interferire con molteplici miRNA coinvolti; (d) lo sviluppo della strategia di "masking" basata su PNA.

Metodi essenziali. Negli esperimenti analizzeremo l'espressione dei microRNA con microarray ed eseguiremo identificazione e validazione dei microRNAs/mRNAs coinvolti, con programmi di bioinformatica. Protocolli di modulazione dell'attività dei microRNA usando antagomirs e pre-miRNA saranno sviluppati per ottenere una modulazione di CFTR e interattoma.

Risultati preliminari. Una lista di miRNAs che colpiscono CFTR è già disponibile e validata e include i miR-145, miR-223, miR-494, miR-509-3p and miR-138. In studi recenti abbiamo già dimostrato di essere in grado di modificare l'attività dei miRNA usando acidi peptido-nucleici (PNAs).

Risultati attesi. Il risultato principale di MICRORNA-CF è l'identificazione di microRNA (e relativi mRNA bersaglio) e di biomolecole di interesse in medicina traslazionale, con lo scopo di modificare l'espressione genica di cellule da pazienti con fibrosi cistica, e, in particolare, di diminuire l'attività biologica dei microRNA coinvolti nell'inibizione di CFTR e delle proteine che interagiscono con CFTR.

49. Interfering with glycosaminoglycans during *Pseudomonas aeruginosa* chronic lung infection: pre-clinical exploitation of a novel therapeutic strategy for cystic fibrosis

Cigana C¹, Naggi A²

¹Unità Infezioni e Fibrosi Cistica, Divisione Immunologia, Trapianto e Malattie infettive, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano, ²Istituto Ricerche Cliniche e Biochimiche G. Ronzoni, Milano (FFC#18/2016, New)

Background. *P. aeruginosa* chronic infections cause exaggerated inflammation and tissue damage in the airways of CF patients. The levels and sulphation of glycosaminoglycans (GAG), polysaccharides (PS) constituting the lung extracellular matrix, are elevated in the lung of CF patients.

Hypothesis and objectives. The purposes of this project will be to define how *P. aeruginosa* chronic infection and CFTR deficiency affect the levels and sulphation of specific



Cristina Cigana, seconda da destra, titolare del progetto, e Annamaria Naggi, a destra, Partner del progetto

GAG species and to carry over a pre-clinical study to optimize the administration of ad-hoc synthesized PS. The final aim is to improve their efficacy in competing with endogenous GAG, thus reducing inflammation and tissue damage in CF mouse models of *P. aeruginosa* chronic lung infection.

Essential methods. Levels of specific GAG species will be measured in CF and non-CF mice during *P. aeruginosa* chronic lung infection. The biodistribution and pharmacokinetic of the two most promising PS will be measured in murine plasma and lungs using different routes (including aerosol delivery) and times of administration. The best protocol will be used in the CF mouse model of *P. aeruginosa* chronic lung infection to validate PS efficacy.

Preliminary Results. Under previous grant (FFC #14/2013), we found that the lungs of cystic fibrosis (CF) mice infected with *P. aeruginosa* showed higher sulphation of specific species of GAG, well-known polysaccharides (PS) of the lung extracellular matrix, in comparison to non-CF mice. In addition, we found that two synthetic PS, that compete with endogenous GAG, were efficacious in reducing inflammation and tissue damage in mouse models of *P. aeruginosa* infection.

Expected results and their significance. The results of this project will clarify how *P. aeruginosa* chronic infection and CFTR deficiency affect the composition of the lung tissue. Biodistribution and pharmacokinetic studies will indicate the best protocols, in terms of administration route and dosing intervals, to be used to optimize the effectiveness of PS in reducing inflammation and tissue damage caused by *P. aeruginosa* chronic infection in CF. Overall, the results obtained could prompt the clinical exploitation of this new therapeutic approach to decrease lung disease progression in CF patients.

Valutazione pre-clinica dell'efficacia di composti che competono con i glicosaminoglicani polmonari nel ridurre l'infiammazione e il danno al tessuto causati dall'infezione cronica da *Pseudomonas aeruginosa*

Ragioni dello studio. I cambiamenti strutturali delle vie respiratorie FC, in seguito ad infezione cronica da *P. aeruginosa*, sono caratterizzati da ipersecrezione di muco, degradazione della matrice strutturale e alti livelli di glicosaminoglicani (GAG), tra i principali costituenti del tessuto polmonare.

Ipotesi e obiettivi. L'ipotesi alla base di questo studio è che i GAG possano aggravare l'infiammazione e il danno al tessuto polmonare. Lo scopo di questo nuovo progetto è di approfondire la composizione del tessuto polmonare FC in seguito a infezione cronica da *P. aeruginosa* in vivo e in campioni respiratori di pazienti FC, e di condurre uno studio pre-clinico per validare e ottimizzare il trattamento con i due polisaccaridi solfati (PS) sintetici selezionati, in studi precedenti, come più promettenti nel contrastare la produzione e funzione dei GAG.

Metodi essenziali. La quantità di specifici GAG verrà va-

lutata nel tessuto polmonare di modelli *in vivo* non-FC e FC pre- e post-infezione cronica da *P. aeruginosa* e in campioni respiratori di pazienti FC. Verrà inoltre valutato come e dove si distribuiscono i due PS sintetici nel polmone murino e nel plasma (farmacocinetica e biodistribuzione) dopo somministrazione per via sistemica e aerosol. Questo consentirà di validare il protocollo più efficace e più sicuro nel ridurre l'infiammazione e il danno tessutale, anche in combinazione con antibiotici usati in pazienti con FC, nel modello murino di infezione cronica da *P. aeruginosa*.

Risultati preliminari. Nel precedente progetto (FFC #14/2013) abbiamo individuato una diversa solfatazione di alcuni GAG nel tessuto polmonare di topi FC rispetto ai non-FC. Stiamo ora proseguendo con la caratterizzazione di altre specie di GAG. Abbiamo anche identificato due PS in grado di ridurre l'infiammazione e il danno tessutale in modelli murini.

Risultati attesi e loro significato. I risultati di questo progetto chiariranno come l'infezione cronica da *P. aeruginosa* e il difetto della CFTR influiscano sulla composizione del tessuto polmonare. Il trattamento nel modello murino indicherà la migliore via di somministrazione e il migliore protocollo in termini di dosi e intervalli di somministrazione da utilizzare per ottimizzare l'efficacia dei PS nel ridurre l'infiammazione e il danno tessutale. I risultati ottenuti potrebbero permettere la successiva sperimentazione clinica di una nuova terapia atta a migliorare la condizione clinica dei pazienti FC.

50. Phosphodiesterases type-4 (PDE4) inhibitors and β 2-adrenergic agonists to reduce neutrophilic lung inflammation in cystic fibrosis. Preclinical studies and identification of biomarkers of efficacy

Evangelista V

Laboratory of Vascular Biology and Pharmacology, Fondazione Mario Negri Sud, Santa Maria Imbaro, Chieti (FFC#16/2013, In progress)

Background. Lung disease, in cystic fibrosis (CF), develops with time because of exaggerated recruitment and tissue damaging activities of neutrophils migrated into the airways.

Hypothesis and objectives. The aim of the present project is to define the efficacy of PDE4 inhibitors alone or combined with β 2 adrenergic agonists to control neutrophil function, *in vitro*, and to test the efficacy and potential side effects of this pharmacological treatment in mice subjected to chronic *Pseudomonas aeruginosa* (PA) infection.

Essential methods. CF patients were recruited at the "Centro Regionale Fibrosi Cistica, Ospedale di Atri". Selective PDE-4 inhibitors tested in this study were: rolipram, roflumilast-N-Oxide (RNO), the active metabolite of roflumilast (R), an oral selective PDE4 inhibitor approved for treatment of COPD, and formoterol a long acting β 2 adrenergic agonist.

Results. *In vitro*, PDE4 inhibitors curbed neutrophil extracellular traps (NETs) formation, preserved cellular integrity, reduced release of micro-particles and IL-8 by healthy and CF neutrophils cultured in the presence of bacterial endotoxin. The efficacy of PDE4 inhibitors was significantly increased by formoterol. Notably, pharmacological effects appeared significantly higher in normal neutrophils in which CFTR was blocked by CFTRinh-172 as well as in neutrophils isolated from CF patients, compared to normal neutrophils.

Once day oral or intra-tracheal (i.t.) administration of roflumilast (5mg/kg), reduced several indices of neutrophilic inflammation in the broncho-alveolar lavage (BAL) of C57 mice subjected to PA infection, while not affecting bacterial load, 5 days after infection. Notably, when corrected for the number of neutrophils recruited in the BAL, the amount of free-



Virgilio Evangelista, titolare del progetto di ricerca

DNA and total proteins, appeared to be strongly reduced, in mice treated by R, i.t. Finally, we found increased leukocyte-derived derived microparticles in circulating blood of CF patients suggesting a role for measurement of these cellular fragments as surrogate marker in explorative clinical trials testing the efficacy of PDE4 inhibitors on neutrophilic inflammation in CF patients.

Spin-off for research & clinical purposes. Our data support PDE4 and β 2 adrenergic receptors as novel targets to reduce neutrophilic inflammation and lung damage in CF.

Inibitori di fosfodiesterasi tipo 4 (PDE4) e agonisti β 2-adrenergici per ridurre l'infiammazione polmonare nella fibrosi cistica. Studi preclinici e identificazione di bio-marcatori di efficacia

Ragioni dello studio. Il danno polmonare, nella fibrosi cistica (FC), si sviluppa come conseguenza di una cronica infiammazione che coinvolge principalmente i leucociti neutrofili (N).

Ipotesi e obiettivi. Il progetto si propone 3 obiettivi: 1) Definire l'effetto di inibitori di PDE4, da soli e in combinazione con agonisti β 2-adrenergici, *in vitro*, in N di pazienti FC. 2) Testare l'efficacia e i potenziali effetti collaterali della terapia in un modello di infezione da *Pseudomonas aeruginosa* (PA) nel topo. 3) Identificare marcatori di efficacia.

Metodi. I pazienti FC sono stati reclutati al "Centro Regionale Fibrosi Cistica, Ospedale di Atri". Inibitori selettivi di PDE-4 testati nello studio: rolipram, roflumilast-N-Oxide, il metabolita attivo di roflumilast (R), un inibitore orale in uso clinico nella BPCO, e il formoterolo un agonista β 2 adrenergico.

Risultati. *In vitro*, gli inibitori di PDE4 bloccano la formazione di "neutrophil extracellular traps" (NETs), preservano l'integrità cellulare, riducono la formazione di microparticelle e la produzione di IL-8 da parte di N di soggetti normali e di pazienti FC, attivati con endotossina batterica. La loro efficacia è potenziata dal formoterolo. La somministrazione giornaliera, orale o intratracheale (i.t.) di R (5mg/kg), riduce vari indici di infiammazione neutrofilica nelle vie aeree di topi C57 sottoposti a infezione da PA, mentre non influenza la carica batterica, 5 giorni dopo l'infezione. È interessante notare che, se corretta per il numero di N reclutati, la quantità di DNA libero e di proteine totali nelle vie aeree appare fortemente ridotta nei topi trattati con R., per via intratracheale. Questi risultati dimostrano che inibitori di PDE4 sono in grado di controllare, inibendo il processo di NETosis: i) il rilascio di DNA e di enzimi proteolitici, ii) la frammentazione e rilascio di microparticelle. Tutti questi fattori, in particolare il DNA libero, sono importanti mediatori delle alterazioni del muco e di danno tessutale. Inoltre il mantenimento dell'integrità dei N e la loro progressione verso l'apoptosi, potrebbe da un lato aumentare la loro efficacia antibatterica e dall'altro attivare processi di risoluzione dell'infiammazione.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. Inibitori di PDE4

sono attualmente in uso clinico per trattamento della BPCO e in sperimentazione in altre malattie infiammatorie. I nostri risultati forniscono le basi pre-cliniche a una sperimentazione di questa classe di farmaci in pazienti con FC.

51. Resolvin D1 for targeting chronic lung inflammation, infection, and damage in cystic fibrosis

Recchiuti A^{1,4}, Mari VC^{1,4}, Isopi E^{1,4}, Mattoscio D^{1,4}, Lamolinara A^{2,4}, Iezzi M^{2,4}, Gatta V^{3,4}, D'Aurora M^{3,4}, Franchi S^{3,4}, Dragonzi A⁴, Moretti P⁵

¹Department of Medical, Oral, and Biotechnology Science,

²Department of Medicine and Aging Science, ³Department of Psychological, Humanities and Territorial Science, and

⁴Center on Aging Science and Translational Medicine (CeSI-MeT) "G. d'Annunzio" University of Chieti-Pescara, Chieti, Italy; ⁵Infection and Cystic Fibrosis Unit, Division of Immunology, transplantation, and Infectious Diseases, IRCCS San Raffaele Scientific Institute, Milan, Italy; ⁶Centro Regionale Fibrosi Cistica, Ospedale San Salvatore, Atri, Teramo (FFC#19/2016, New)



Antonio Recchiuti con alle spalle i colleghi di laboratorio

Background and Rationale. Persistent lung inflammation, infections, and lung disease still cause hundreds of premature deaths of cystic fibrosis patients every year with a tremendous medical, social, and economical burden. Work from previous FFC-funded research (FFC#21/2014) demonstrate that RvD1: a) dampens lung inflammation and *P. aeruginosa* burden in CF mice; b) stimulates cellular mechanisms of resolution in vivo and in vitro; c) is organ protective during chronic *P. aeruginosa* infection. Hence, determining whether RvD1 is effective in promoting resolution of inflammation, microbial clearance, and airway tissue regeneration is of wide interest for CF.

Hypothesis and Objectives. Overarching hypotheses tested here are that RvD1 reduces excessive inflammation, promotes resolution and clearance of infection, and stimulates lung repair in CF. Two-fold specific aims of this research are:

Investigating if RvD1 limits airway chronic inflammation, *P. aeruginosa* infection, and damage stimulating tissue repair in preclinical models of CF.

Establishing if RvD1 regulates select genes that can be harnessed to limit inflammation and promote tissue repair by human CF cells.

Essential Methods. *CFTR*^{-/-} mice bearing chronic *P. aeruginosa* infection will be treated with RvD1 to assess reduction in bacterial burden, inflammation, and tissue damage. Also, direct actions of RvD1 on primary CF airway epithelial will be established to determine molecular mechanisms activated to reduce inflammatory signalling and enhance tissue regeneration. This project will be implemented in 2 years by a team of 11 scientists

Preliminary results (personal). In previous work (FFC #21/2014 – Recchiuti) we demonstrated that, *in vivo*, RvD1

enhances *P. aeruginosa* clearance during chronic infection, lowers lung inflammation and collateral tissue damages, and regulates select gene related injury repair in CF epithelial cells during infection.

Anticipated results and their significance. This project will define: a) preclinical anti-inflammatory, pro-resolutive, and tissue protective actions of RvD1; b) cellular and molecular mechanism of action of RvD1 that limit inflammation and infection while promoting resolution and tissue repair. In accordance with the FFC general vision, this research has the ultimate aim to improve health and prolong life of patients through the identification of innovative strategies to reduce CF inflammation-based pathology.

Resolvina D1 per il trattamento dell'infiammazione ed infezione cronica in fibrosi cistica

Ragioni dello studio. L'infiammazione cronica e le continue infezioni batteriche sono la principale cause del danno polmonare nei pazienti con fibrosi cistica (FC), con conseguente riduzione della qualità e dell'aspettativa di vita dei pazienti. Farmaci specifici sono necessari per curare questi aspetti della malattia ma anti-infiammatori ed antibiotici non sono pienamente efficaci. Nel nostro corpo, normalmente, vengono prodotte sostanze che spengono l'infiammazione e ne favoriscono la risoluzione, stimolando l'azione del sistema immunitario di combattere l'infezione e la capacità di rigenerare le cellule danneggiate dall'infiammazione. La resolvina (Rv) D1 è una di tali sostanze. Essa è efficace nel trattare l'infiammazione cronica in modelli sperimentali animali. È pertanto di estrema importanza studiarne le azioni in FC.

Ipotesi ed obiettivi. In questo progetto studieremo se RvD1 è in grado di ridurre l'infiammazione polmonare, l'infezione da *P. aeruginosa* ed il danno alle vie aeree in topi infettati. Valuteremo, inoltre, se RvD1 è in grado di regolare la crescita delle cellule epiteliali che formano le vie aeree favorendo la riparazione delle lesioni.

Metodi essenziali. Per raggiungere tali obiettivi utilizzeremo topi che sono privi della proteina CFTR che saranno infettati con *P. aeruginosa* e trattati con RvD1 per diverse settimane. Al termine del trattamento compareremo il numero di batteri vivi nei polmoni, il numero di globuli bianchi ed il grado di lesione ai polmoni. Cellule respiratorie di pazienti saranno, analogamente, infettate in laboratorio con *P. aeruginosa* trattate con RvD1 per stabilire se essa ne aumenta la crescita e la capacità di riparare lesioni causate dall'infezione.

Risultati preliminari. In un precedente progetto (FFC #21/2014 – Recchiuti) abbiamo dimostrato che RvD1 facilita l'eradicazione di *P. aeruginosa* in topi sottoposti ad infusione cronica, riduce l'infiammazione ed il danno polmonare e regola uno specifico gruppo di geni coinvolti nella rigenerazione di cellule delle vie aeree.

Risultati attesi e loro significato. I risultati di questo studio permetteranno di definire le azioni anti-infiammatorie, pro-risolutive e rigenerative di RvD1 in modelli sperimentali di FC, identificando i meccanismi mediante i quali essa opera e fornendo le conoscenze di base per lo sviluppo di studi clinici nei quali testare RvD1 per ridurre l'infiammazione, l'infezione ed il danno polmonare nei pazienti con FC.

52. A systematic investigation of miglustat-derivative iminosugar clusters as possible anti-inflammatory agents for cystic fibrosis lung disease

Munari S¹, Loberto N², Aureli M², Compain P³, D'Alonzo D⁴, Guaragna A⁴, Palumbo G⁴, Lampronti I⁵, Prandini P¹, Provezza L¹, Sant A¹, Tamanini A¹, Lippi G¹, Cabrini G¹, Dechechci MC¹

¹Laboratory of Molecular Pathology, Department of Pathology and Diagnostics, University Hospital of Verona, ²Department of Medical Biotechnology and Translational Medicine, University of Milano, ³Laboratoire de Synthèse Organique et Molécules Bioactives ECPM-Université Louis Pasteur- Strasbourg- France, ⁴Department of Chemical Sciences, University Federico II, Napoli, Italy, ⁵Department of Life Sciences and Biotechnology, University of Ferrara, (FFC#22/2015, In progress)



Maria Cristina Dechechchi, titolare del progetto di ricerca

Background. Current anti-inflammatory strategies for CF lung disease are limited, so that development of innovative and more efficient anti-inflammatory drugs remains pivotal. Because altered ceramide levels are involved in CF, targeting different pathways in sphingolipid (SL) metabolism with the final goal to reduce ceramide, represents a therapeutic option for limiting excessive CF lung inflammation. In this regard several inhibitors have been proposed. Our interest was addressed to the iminosugar marketed drug miglustat (Zavesca) that produces an anti-inflammatory effect in CF bronchial cells, by targeting b-glucosidase 2 (GBA2). Iminosugars offer many advantages as potential drug candidates, due to the good oral bioavailability and very specific immune modulatory and chaperoning activity.

Hypothesis and objectives. In order to better exploit the benefits of this type of molecules, a pressing challenge is to identify similar chemical compounds, able to inhibit GBA2 activity and reduce the inflammatory response to *P.aeruginosa* at very low dosage and without adverse effects. This study was aimed to identify more efficient miglustat analogues carrying anti-inflammatory activity and selective GBA2 action.

Methods. Thanks to the synergy between distinct albeit overlapping chemical and biochemical expertise, we focused on multivalent iminosugars, on L iminosugars, deriving from miglustat and on racemic mixtures composed by D iminosugars and the corresponding L enantiomers. The effects of these compounds on inflammatory response and cell toxicity in CF bronchial cells were studied. GBA2 activity was tested in parallel.

Results. We found miglustat analogues having anti-inflammatory activity at very low dosage (nM). In particular, monovalent and multivalent DNJ C9 iminosugars, having DNJ as peripheral ligand, and racemic mixtures of N-alkylated iminosugars. Monovalent DNJ C9 and D enantiomers NP DNJ and AMP DNJ were very potent inhibitors of GBA2, activity. The elongation of N-alkyl chain in N-alkylated iminosugars increased the affinity for GBA2. All the compounds herein tested, except N-alkylated D NN DNJ iminosugar, did not induce apoptosis or affect cell viability.

Spin-off for research & clinical purposes. Overall these results confirm that iminosugars DNJ derivatives are effective in reducing the inflammatory response to *P.aeruginosa* in CF bronchial cells. In this respect the racemic mixtures of N-alkylated iminosugars could be more effective tools likely through a more specific inhibition of GBA2 activity. These data may

improve the therapeutic potential of iminosugars and lead to the development of powerful anti-inflammatory drugs, thus providing real therapeutic options for CF lung pathology.

Uno studio sistematico di iminozuccheri, derivati del miglustat, come possibili farmaci anti-infiammatori per la malattia polmonare in fibrosi cistica

Ragioni dello studio. La recente approvazione del farmaco ivacaftor (Kalydeco) da parte di FDA, per il trattamento del difetto di base della Fibrosi Cistica (FC), per i pazienti con una specifica mutazione, ha acceso molte speranze. Tuttavia, poiché questo farmaco è efficace solo per una piccola percentuale di pazienti, servono ancora terapie adiuvanti che rallentino il declino della funzione polmonare. Poiché nei polmoni dei pazienti FC sono state osservate alterazioni dei livelli di ceramide, la riduzione di questo sfingolipide (SL) può contrastare l'eccessiva risposta infiammatoria presente in FC. Per questo scopo sono stati proposti diversi inhibitori del metabolismo degli SLs. Grazie ai finanziamenti da parte di FFC, il nostro interesse si è focalizzato sull'iminozucchero miglustat, farmaco noto con il nome di Zavesca, che ha un effetto anti-infiammatorio in cellule bronchiali FC, attraverso l'inibizione dell'enzima b-glucosidasi 2 (GBA2).

Ipotesi e obiettivi. Gli iminozuccheri offrono molti vantaggi come potenziali farmaci, in quanto hanno una buona biodisponibilità per via orale e attività sia immuno-modulatoria che come "chaperonine". Per meglio sfruttare i vantaggi di questo tipo di molecole, la sfida pressante è quella di identificare composti chimici analoghi, più specifici e con effetti avversi limitati. Questo progetto intende analizzare una serie di iminozuccheri, derivati del miglustat come possibili farmaci anti-infiammatori per FC.

Metodi. Grazie alle sinergie di diverse competenze in ambito chimico e biochimico, abbiamo analizzato in vitro iminozuccheri multivalenti, L iminozuccheri e miscele di L e D enantiomeri, in termini di: effetti sulla risposta infiammatoria, inibizione del bersaglio enzimatico GBA2 e possibile tossicità in vitro.

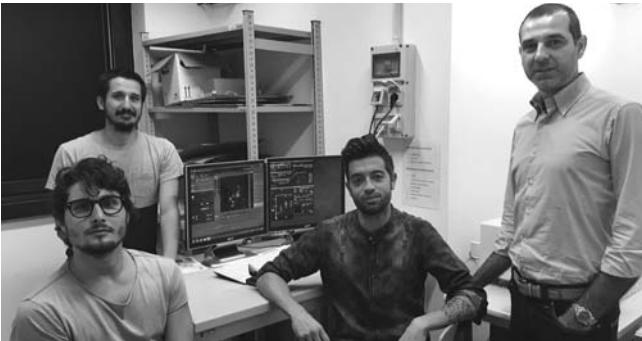
Risultati. Abbiamo individuato iminozuccheri, analoghi del miglustat che hanno attività anti-infiammatoria a dosaggi molto bassi (nM). In particolare composti multivalenti che hanno DNJ come ligando periferico e le miscele racemiche di iminozuccheri N-alchilati. Mono DNJ C9 e gli enantiomeri D NP DNJ e AMP DNJ sono inhibitori molto potenti di GBA2. Quasi tutti i composti studiati non hanno mostrato tossicità cellulare.

Possibili ricadute per ricerca clinica. Nel complesso questi dati confermano il potenziale terapeutico dei derivati del miglustat. I composti maggiormente potenti che abbiamo individuato possono essere il punto di partenza per lo sviluppo nuovi farmaci in grado di ridurre specificamente l'infiammazione polmonare FC.

53. Mitochondrial quality control machinery a role in the *Pseudomonas aeruginosa*-triggered inflammatory response in cystic fibrosis

Marchi S¹, Paterniani S¹, Sbano L¹, Cabrini G², Rimessi A¹

¹Dept of Morphology, Surgery and Experimental Medicine, Section of Pathology, Oncology and Experimental Biology, Interdisciplinary Center for the Study of Inflammation (ICSI), Laboratory for Technologies of Advanced Therapies (LTIA), University of Ferrara, Italy, ²Laboratory of Molecular Pathology; Department of Pathology and Diagnostics, University-Hospital of Verona, Italy (FFC#20/2015, In progress)



Alessandro Rimessi, a destra, con i colleghi di ricerca

Background. Recently it has been demonstrated that perturbations to mitochondrial activity, organelles involved in cellular fate, are sufficient to exacerbate the *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) -dependent inflammatory response in Cystic Fibrosis (CF). Normally intracellular pathogens are cleared through a process called xenophagy. A similar mechanism, called mitophagy, has the cardinal role of selective degradation of dysfunctional mitochondria in stress cells, acting as mitochondrial quality control mechanism. This mitochondrial control activity is mediated also by a second mechanism called: mitochondrial unfolded protein response (UPRmt). The decline in these mechanisms could set the threshold of inflammatory cellular susceptibility. The objective of this project is to broaden our knowledge on the processes that regulate the mitochondrial quality control machinery and their influence on the inflammatory response generated by *P. aeruginosa* in CF.

Hypothesis and objectives. The overall goal of project is to investigate on the role of mitochondrial quality control-related mechanisms in CF. In particular in human airways cells will be explored three the balance among these processes: the relationship between mitophagy and xenophagy; The relationship between mitophagy and mtUPR to counteract the mitochondrial damage; The role of Ca²⁺ signalling in these processes.

Methods. The dysfunction of selective autophagic responses is direct link between dysfunctional mitochondrial accumulation and invasion of *P. aeruginosa* in CF epithelial airways cells. On these topics: selective autophagy and mitochondrial function stood the methodological and cultural background of this grant, research areas where PI and collaborators have gained expertise and published previous works.

Results. In this first year we have demonstrated that: I) The CFTR channel influences the mitophagic flux, affecting the Parkin-mediated amplify signal. II) Defects in mitophagic response compromises the xenophagic activity of CF cells. III) Dysfunctional mitochondrial accumulation promotes mtUPR activation in CF cells.

Spin-off for research and clinical purposes. The molecular comprehension of these sophisticated cellular processes will contribute to design alternative therapeutic approach to treat the pulmonary inflammatory response in CF.

Il Ca²⁺ mitocondriale media l'attivazione dell'inflamasoma esasperando la risposta infiammatoria nell'infezione da *Pseudomonas aeruginosa*

Ragioni dello studio. Recentemente è stato dimostrato che perturbazioni nell'attività dei mitocondri, organelli fondamentali per la vita della cellula, sono in grado di esasperare la risposta infiammatoria promossa dal batterio *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) in Fibrosi Cistica (FC). Normalmente, i patogeni che invadono una cellula sono eliminati attraverso un processo chiamato xenofagia. Un simile meccanismo, chiamato mitofagia, ha il ruolo cardine di degradare selettivamente mitocondri alterati in cellule stressate, agendo come un

meccanismo di controllo della qualità funzionale. Quest'azione di controllo è mediata anche da un secondo meccanismo chiamato: mitochondrial unfolded protein response (mtUPR). L'indebolimento di questi meccanismi può influenzare la suscettibilità cellulare all'infiammazione. L'obiettivo quindi di questo progetto è ampliare le conoscenze sui processi che regolano il controllo qualità dei mitocondri e la loro influenza sulla risposta infiammatoria cellulare indotta da *P. aeruginosa* in FC.

Ipotesi e obiettivi. L'obiettivo generale del progetto è indagare sul ruolo dei meccanismi che regolano il controllo qualità della funzione mitocondriale in FC. In particolare, in cellule umane epiteliali bronchiali saranno esplorati tre aspetti complementari a tali processi: la relazione tra xenofagia e mitofagia; la relazione tra mitofagia e mtUPR nel contrastare il danno ai mitocondri; e il ruolo del segnale Ca²⁺ in tali processi.

Metodi. La disfunzione di selettivi processi autofagici è il link diretto tra l'accumulo di mitocondri alterati e l'invasione di *P. aeruginosa* in cellule umane epiteliali bronchiali FC. Su questi temi: autofagia selettiva e funzione mitocondriale, si attestano le basi metodologiche e culturali di questo progetto, aree di ricerca in cui PI e collaboratori hanno maturato esperienza e pubblicato precedenti lavori.

Risultati. In questo primo anno abbiamo dimostrato che:

I) Il canale CFTR influenza il flusso mitofagico, alterando il segnale di amplificazione mediato daParkin. II) Difetti nella risposta mitofagica compromette l'attività xenofagica di cellule FC. III) L'accumulo di mitocondri alterati promuove l'induzione di mtUPR in cellule FC.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. La comprensione di questi sofisticati processi cellulari contribuirà a sviluppare alternative strategie di trattamento dell'infiammazione polmonare in FC.

54. CFTR-defective biliary cells from human induced pluripotent-stem cells (iPSC) as a model to study the role of innate immunity in cystic fibrosis liver disease

Fiorotto R¹, Amenduni M¹, Brivio S², Cadamuro M², Strazzabosco M^{1,2}

¹Dept. of Internal Medicine; Liver Center and Digestive Diseases Section; Yale University; New Haven; USA, ²Department of Medicine and Surgery, Section of Digestive Diseases, University of Milan-Bicocca, Milan, Italy (FFC#24/2015, In progress)



Mario Strazzabosco, titolare del progetto

Background. A percentage of patients with cystic fibrosis (CF) present liver disease (CFLD), a chronic cholangiopathy that can compromise survival and quality of life. Unfortunately a cure is not yet available. Defective CFTR function impairs the ability of specialized liver cells to produce bile in the proper amount and quality, however we have found that the recovery

of bile secretion is not sufficient to ameliorate liver damage in an experimental model in which CFTR-defective liver cells are exposed to endotoxins. Using an animal model of CF we have demonstrated that lack of CFTR has a profound impact on the biliary epithelial innate immunity and we have identified the protein tyrosine kinase Src as an important target. Therefore, a pathogenesis-based therapeutic approach, in addition to restoring the secretory functions, should also target the TLR4/NF- κ B-dependent inflammatory pathway in the biliary epithelium. However, a major obstacle to design new therapies is the lack of an experimental model that matches the human CF biliary phenotype.

Hypothesis and objectives. The aim of this project is to translate our knowledge and the therapeutic applications in a model that closely resemble the human disease as a proof of concept of the applicability of our findings.

Methods. Thus, we will exploit the novel technology of human induced pluripotent stem cells (iPSC) to translate our findings to the human disease.

Results. During the first year of the project we have established a protocol for differentiation of human iPSCs, derived from a healthy control and from a CF patient with $\Delta F508CFTR$ mutation, into mature and functional biliary cells. Human cholangiocytes generated with our protocol could be sub-cultured for several passages without losing their differentiation. Moreover, $\Delta F508$ mutated iPSC-derived cholangiocytes showed increased phosphorylation of Src kinase and of TLR4, as well as higher NF- κ B activation in response to LPS as compared to control cells.

Spin-off for research and clinical purpose. We have validated a model of human origin to perform studies on the efficacy of new drugs for the liver disease in CF. Our future goal is to generate iPSCs from CF patients carrying different CFTR mutations to screen their impact on the regulation of innate immunity. Our results will have a strong potential of launching novel treatment strategies for CF-related liver disease that might be easily extended to other organs (i.e. lung, pancreas, intestine).

Differenziamento di cellule biliari umane con CFTR mutato da cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC) come modello per studiare il ruolo dell'immunità innata nella malattia epatica associata a fibrosi cistica

Posters E – CLINICAL ISSUES

55. Outcomes of spontaneous application of carrier screening for cystic fibrosis: follow-up of its effects on birth prevalence, neonatal screening and reproductive behaviour of carrier couples

Castellani C

Centro Regionale Fibrosi Cistica, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata, Verona (FFC#26/2015, In progress)

Background. In the latest years the offer of CF carrier tests to individuals and couples at no increased risk of having affected children (carrier screening) has been widely practiced in a sub-area of north-eastern Italy (Eastern Veneto), although not in a structured and formal setting. This practice has led to a reduction in the number of births of babies with CF.

Hypothesis and objectives. This is an observational study which is monitoring trends of CF birth prevalence and is correlating them with carrier screening over an unprecedented long period (25 years – 1993/2018) in Northeast Italy. In the

Ragioni dello studio. Circa il 30% dei pazienti affetti da fibrosi cistica (FC) presentano anomalie biochimiche epatiche e circa il 10% di questi sviluppano complicazioni epato-biliares caratterizzate da una malattia cronica delle vie biliari. Tali complicanze epatiche influiscono sulla sopravvivenza e sulla qualità di vita dei pazienti FC e possono essere indicazione di trapianto di fegato. Purtroppo una terapia specifica non è ancora disponibile. Utilizzando un modello animale di FC, abbiamo in precedenza dimostrato che la mancanza di CFTR nelle cellule biliari ha un profondo impatto sui meccanismi che regolano l'immunità innata, che in condizioni normali, proteggono il sistema biliare dalle infezioni.

Ipotesi ed obiettivi. La nostra ipotesi è che il controllo mirato di tali meccanismi potrebbe avere un utilizzo terapeutico. Tuttavia una grossa limitazione per lo sviluppo di nuove terapie è la mancanza di un adeguato modello umano su cui testarle. Lo scopo di questo progetto è quello di generare un modello di origine umana che riproduca la malattia e ci permetta di testare diverse molecole a scopo terapeutico. A tale proposito utilizzeremo la nuova tecnologia delle cellule staminali umane indotte (iPSC). Le iPSC sono cellule adulte isolate da biopsie della pelle o dal sangue di pazienti che vengono riprogrammate in laboratorio allo stato di cellula staminale pluripotente e successivamente possono essere differenziate nel tipo cellulare di interesse (fegato, pancreas, polmone, etc.).

Metodi. Utilizzeremo per i nostri studi iPSC ottenute da pazienti con FC omozigoti per la mutazione $\Delta F508$, che confronteremo con iPSC isolate da soggetti sani.

Risultati. Durante il primo anno del progetto siamo riusciti a mettere a punto un protocollo che ci ha permesso di differenziare sia le iPSC mutate (DeltaF) che quelle sane (controllo) in cellule biliari mature e funzionali. Abbiamo successivamente visto che le cellule DeltaF si comportano diversamente dalle normali e mostrano delle alterazioni dei meccanismi dell'immunità innata. Abbiamo inoltre individuato la proteina chinasi Src come un possibile target per terapia.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. I nostri risultati mostrano come sia possibile generare dei modelli umani a partire da iPSC isolate da paziente, utili per testare l'efficacia di nuove terapie mirate. Questi studi porteranno a nuove terapie per la malattia epatica in FC che potranno successivamente essere estesi ad altri organi affetti.



Carlo Castellani, titolare del progetto

latest years a reduction in the number of tests performed in the area has been registered. The project is monitoring if such trend continues, and, if needed, will explore its causes and see if birth prevalence will be influenced by it. Birth prevalence trends in the area under study will be compared with those in other areas of Italy. We are collecting information on the

behaviour of couples of carriers identified by the screening system for newly identified couples of heterozygotes.

Methods. The study concerns the eastern part of the Veneto, a region located in the northeast of Italy. Major actions are: updated audit of the network of laboratories offering and performing CF mutation analysis for carrier screening to a population of reproductive age in the Veneto Region; collection of data from laboratories on number of tests performed and results obtained; data cleaning, quality control and monitoring of laboratories results; collection of data on CF birth prevalence and on positive predictive of the newborn screening procedures at the Verona CF Centre; collection of data on CF birth prevalence from the rest of Italy through the Italian CF Registry and/or through CF Centres databases in selected regions; analysis of the correlation between carrier screening birth prevalence and newborn screening performance; follow-up of carrier couples' attitudes and behaviours.

Results. A Veneto Network of laboratories has been established. - The collection of data on Carrier Screening for the years 2014/2015 has been completed. - Preliminary statistical analysis of the collected data has been performed: a reduction in the number of tests performed in the area is confirmed, with a concomitant increase in CF incidence.

Spin-off for research & clinical purposes. Better information on the correlation between CF carrier screening, CF birth prevalence and CF newborn screening. - A model correlating the number of carrier tests with the expected incidence of CF - The substantiation of the relationship between Carrier Screening and Cystic Fibrosis incidence opens the way to Health technology assessment (HTA) studies.

Risultati di un'offerta non organizzata di screening del portatore di fibrosi cistica: monitorizzazione degli effetti su incidenza di FC, screening neonatale e scelte riproduttive delle coppie di portatori

Ragioni dello studio. Negli ultimi anni l'offerta del test del portatore di fibrosi cistica agli individui e alle coppie senza rischio aumentato di avere bambini affetti da Fibrosi Cistica (Screening del Portatore) è stata ampiamente diffusa in una sotto-area dell'Italia nord-orientale (Veneto Orientale) sebbene non ancora in un setting strutturato e formale.

Ipotesi e Obiettivi. Questo è uno studio osservazionale che sta monitorando i trend della prevalenza di nascite FC e li correlerà con lo Screening del Portatore per un periodo di tempo senza precedenti (25 anni – 1993/2018) nel Nordest Italia. Negli ultimi anni si è registrata una riduzione del numero di test effettuati. Il progetto sta monitorando se questo trend continua, e, nel caso, ne approfondirà le cause e verificherà se la prevalenza delle nascite FC ne viene influenzata. Il trend della prevalenza di nascite nell'Area di Studio sarà comparato con quello in altre aree d'Italia. Stiamo raccolgendo informazioni sul comportamento di nuove coppie di portatori eterozigoti identificate dal sistema di Screening. Ciò permetterà di definire più chiaramente come le scelte di queste coppie influenzano il numero di bimbi nati affetti da Fibrosi Cistica.

Metodi. Lo studio interessa la parte orientale del Veneto, una regione situata nel nord-est d'Italia. Le principali azioni finora intraprese sono: verifica e aggiornamento del Network di laboratori che offrono ed effettuano l'analisi delle mutazioni CF per lo Screening del Portatore sulla popolazione in età riproduttiva nella Regione Veneto; raccolta di dati dai laboratori sul numero di test effettuati e relativi risultati ottenuti; pulizia dei dati, controllo qualità e monitoraggio costante dei risultati di laboratorio; raccolta di dati sulla prevalenza di nascite FC e sul predittivo positivo dello screening neonatale presso il Centro Fibrosi Cistica di Verona; raccolta di dati sulla prevalenza di nascite FC dal resto di Italia tramite

il Registro Italiano FC e/o tramite i database dei Centri FC in Regioni selezionate; analisi della correlazione tra Screening del Portatore, prevalenza delle nascite e performance dello screening neonatale; follow-up di attitudini e comportamenti delle coppie di portatori.

Risultati. È stato confermato un Network di Laboratori nel Veneto. La raccolta di dati sullo Screening del Portatore FC per gli anni 2014/2015 è stata completata. Sono state completate le analisi statistiche preliminari sui dati raccolti: è stata confermata una riduzione del numero di test effettuati nell'Area di Studio con un concomitante aumento dell'incidenza FC.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. Una migliore informazione sulla correlazione tra Screening del Portatore FC, prevalenza di nascite FC e lo Screening Neonatale FC. - Un modello che correla il numero di test del portatore con l'incidenza FC attesa. - La conferma della relazione tra Screening del Portatore e Incidenza della Fibrosi Cistica apre la strada agli studi di inquadramento sistematico delle proprietà ed effetti della tecnologia sanitaria (HTA, Health Technology Assessment).

56. Cystic fibrosis and meconium ileus: a multicentric study on risk factors for adverse outcome in infancy

Padoan R

Centro Regionale di Supporto per la Fibrosi Cistica, Clinica Pediatrica, Ospedale dei Bambini, AO Spedali Civili Brescia (FFC#28/2015, In progress)



Rita Padoan, titolare del progetto

Background. Meconium ileus (MI) is recognized as a risk factor for poor outcome in Cystic Fibrosis (CF) patients. Long term observational studies indicated that MI patients suffer of a more severe disease. However, more recent experiences, from Europe and Australia, showed that outcomes in MI patients may be not different than that reached in screened infants. There is no study about clinical status of Italian CF patients presenting with MI at birth.

Hypothesis and objectives. We suggest that risk factors associated to poor clinical outcomes might be identified in patients with MI, and eventually they might be modifiable. The first aim of the study is to identify risk factors associated to poor clinical outcomes in the first year of life in MI infants. Secondary aim is to describe complications presented in early age.

Methods. Our survey includes CF infants born in the years 2009-2015, presenting MI, recruited in CF care Centers participating in the study. All subjects will be evaluated according to gender, genotype, pancreas status, ethnicity, age at diagnosis, age at start of therapy; clinical data will be collected from zero to 36 months. Data/information will be collected on: prenatal diagnosis of intestinal obstruction, medical or surgical treatment of intestinal occlusion, length of resection, presence of stomas (and their duration), parenteral nutrition, length of neonatal hospitalization. All data will be recorded by

research assistants (monitors) trained in audit visits. Patients with poor outcomes will be identified and risk factors for such outcomes evaluated. All CF Centers filled a form requiring the availability and adoption of guidelines or recommendations for CF diagnosis and/or management of MI subjects, shared with paediatric surgeries.

Results. In the first year of the project, approval by Ethical Committee was obtained by the Coordinator Center, then shared with CF Centers. A database was built in ACCESS to collect data. Monitors' visits to CF Center started. No shared recommendation for CF diagnosis and/or management of newborn with MI exists.

Spin-off for research & clinical purposes. Database has been built (English language) to permit further prospective studies on MI patients, also in an international setting. We expect to identify the causes of poor clinical outcomes in MI patients, to recognize modifiable factors, in order to improve clinical and care practices. We expect to write recommendation for CF Centers and Neonatal surgeons as regard the diagnostic-therapeutic protocols in infants with neonatal obstruction.

Fibrosi cistica ed ileo da meconio: studio multicentrico sui fattori di rischio per esiti avversi durante l'infanzia

Ragioni del progetto. L'ileo da meconio (IM) è fattore di rischio per peggiore crescita e funzione respiratoria. Tuttavia, alcune esperienze, europee ed australiane, mostrano come anche nei pazienti con IM possa essere raggiunta una crescita ed una funzione respiratoria pari a quella dei pazienti diagnosticati per screening. A tutt'oggi non disponiamo di dati epidemiologici o informazioni sul follow up clinico per i pazienti italiani con IM.

Ipotesi e obiettivo. L'ipotesi è che esistano fattori di rischio per prognosi negativa nel primo anno di vita nei pazienti con IM, e che alcuni di questi fattori possano essere modificabili. L'obiettivo dello studio è identificarli. Ulteriore obiettivo è descrivere le complicanze cliniche presenti nei primi anni di vita.

Metodi. Il progetto prevede che vengano arruolati nello studio i soggetti con IM, nati negli anni 2009-2015, seguiti nei Centri FC aderenti al progetto. Per ogni soggetto vengono raccolti dati riguardanti la vita prenatale, neonatale, dati clinici (IM medico o chirurgico, semplice o complesso), dati anagrafici, età alla diagnosi di FC, trattamenti medici e chirurgici, ospedalizzazioni e loro durata. Vengono inoltre raccolti i dati clinici (peso/altezza, infezioni respiratorie, complicanze) da zero a 36 mesi. Verranno studiati quali fattori determinano risultati clinici non soddisfacenti (mancata crescita e/o infezione da *Pseudomonas*). Ogni centro FC partecipante ha inoltre completato un questionario che indaga la presenza di raccomandazioni per la diagnosi di FC e/o la gestione clinica dei neonati con IM condivise con i reparti di chirurgia pediatrica.

Risultati. Nel corso del primo anno del progetto si è ottenuta l'approvazione del Comitato Etico dell'Azienda del Centro coordinatore, condivisa con tutti i centri partecipanti; è stato costituito un database (ACCESS) per la raccolta dei dati, sono iniziate le visite dei monitors ai centri con la relativa raccolta dati. Non esistono raccomandazioni condivise per la gestione del neonato con IM fra centri FC e chirurgie pediatriche.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. Il database è stato costruito in modo da poter essere utilizzato anche per raccolte prospettiche dei dati di pazienti con IM, e in lingua inglese, utilizzabile per studi internazionali. Lo studio permetterà di identificare i principali fattori di rischio per una prognosi negativa nei bambini con IM, e quali sono suscettibili di interventi migliorativi. Sarà opportuno redigere in collaborazione con i chirurghi pediatri raccomandazioni per la diagnosi e il follow up dei soggetti con IM e FC.

57. Testing CFTR repair in cystic fibrosis patients carrying nonsense and channel gating mutations

Sorio C¹, Averna M²

¹Department of Medicine, Laboratory of Appleid Research in Cystic Fibrosis "D. Lissandrini", University of Verona, ²Department of Experimental Medicine-Section of Biochemistry, University of Genova (FFC#29/2015, In progress)



Claudio Sorio, titolare del progetto

Background. Leukocytes are increasing recognized in the scientific literature as key component of the pathogenetic events associated to cystic fibrosis. Previous studies demonstrated that CFTR is expressed and functional in peripheral blood leukocytes, especially in monocytes, that represent an easily accessible source of primary cells that might be exploited to monitor CFTR expression and activity.

Hypothesis and objective. The major aim of this project is to validate the sensitivity and specificity of a fluorescence reporter assay as a functional, minimally invasive test of CFTR channel activity in peripheral blood cells (PBMCs or monocytes).

Methods. We have tested specificity of the assay taking in advantage of MM6 (Mono mac 6 cell line highly expressing CFTR) by using CFTR inhibitors and siRNA technology. In parallel we have evaluated peripheral blood cells and tested the protocol in different centers. We applied Iodine-dependent change of fluorescence of HS-YFP to measure CFTR activity.

Results. We have tested the specificity of the assay by evaluating the consequence of CFTR inhibition (chemical inhibitors) or CFTR down-regulation (siRNA technology). In both cases the signal detected in acute monocytic leukemia MM6 cell line (expressing high CFTR levels) is inhibited in a statistically significant manner with respect to normal condition. Apparently HS-YFP assay can detect differences in iodine exchange among healthy (n=14) and CF individuals (n=7). We have tested also different time points and kind of stimuli in order to optimize the experimental conditions. Of note is the case of a patient carrying the G1349D/F508Del mutation and taking Ivacaftor in which we have measured a signal associated to increased iodine transport in all the time points after the start of the treatment (7 time points starting from October 2015). 14 S1251N CF patients before and after ivacaftor treatment were studied in Rotterdam confirming the ability of VX770 potentiator to enhance S1251N CFTR activity in an acute fashion. We identified variables that needs to be further optimized among partners.

Spin-off for research and clinical purpose. These results aim at establishing optimal experimental parameters for testing the effect of CFTR correctors/potentiators on CFTR function measured in blood cells of patients in a personalized manner with a relatively simple multiwell platform assay that can be analyzed in a commonly available automated plate reader.

Analisi della correzione del difetto del canale CFTR in pazienti con mutazione nonsense e di difetti di aperture del canale

Ragioni dello studio. I leucociti sono componenti importanti negli eventi patologici associati alla fibrosi cistica. Studi precedenti hanno dimostrato che queste cellule del sangue esprimono il canale CFTR funzionante e che possono essere utilizzate per monitorarne l'espressione e l'attività.

Ipotesi e obiettivi. L'obiettivo di questo studio è definire la sensibilità e la specificità di un metodo non invasivo per misurare la funzionalità del canale CFTR nelle cellule estratte da sangue periferico (PBMCs o monociti).

Metodi. Abbiamo utilizzato una linea cellulare che sovraesprime CFTR, MM6, trattando queste cellule con specifici inibitori del canale o con la tecnologia del silenziamento siRNA. Abbiamo isolato le cellule primarie da sangue periferico in diversi centri ed eseguito un nuovo test basato sulla fluorescenza della proteina HS-YFP per misurare l'attività di CFTR.

Risultati. In entrambe le condizioni studiate per valutare se il test fosse specifico, trattando le cellule MM6 con inibitori specifici o riducendone l'espressione tramite la tecnologia del silenziamento, abbiamo ottenuto una riduzione del segnale statisticamente significativa rispetto alle condizioni di controllo. Anche nelle cellule dei pazienti il test HS-YFP sembra in grado di discriminare, attraverso la diversa capacità di trasportare lo iodio, i soggetti sani ($n=14$) dai pazienti CF ($n=7$). Al fine di ottimizzare le condizioni sperimentali abbiamo provato anche diversi tipologie di stimolo e diversi tempi di esposizione. Più in dettaglio a Genova sono stati raccolti dati riguardanti un paziente con le mutazioni G1349D/F508Del in trattamento con Ivacaftor e si è registrato un aumento della capacità di trasporto dello iodio in tutte le visite dopo l'inizio della terapia (7 visite a partire da Ottobre 2015). A Rotterdam sono stati seguiti 14 pazienti omozigoti per la mutazione S1251N prima e dopo il trattamento con Ivacaftor e i risultati preliminari sembrano confermare l'abilità di questo farmaco nell'aumentare l'attività del canale CFTR. Tuttavia sono state identificate alcune variazioni ancora da ottimizzare tra i diversi centri.

Possibili ricadute per la ricerca e la pratica clinica. Stiamo valutando l'idoneità e i parametri ottimali di questo saggio per valutare l'efficacia di possibili correttori/potenziatori di CFTR. La potenzialità di questo test risiede nella facile accessibilità delle cellule primarie utilizzate (prelievo di sangue), veloce preparazione del campione e rapida risposta.

58. Italian multicenter study of glucose tolerance defects in cystic fibrosis

Battezzati A¹, Colombo C², Lucidi V³, Magazzù G⁴, Mari A⁵

¹Centro Internazionale per Inquadramento dello Stato Nutrizionale-ICANS, DeFENS, Università degli Studi di Milano,

²Dip. di Scienze Materno Infantili, Università di Milano e Centro Regionale FC, Fondazione IRCCS Ospedale Maggiore Policlinico Mangiagalli e Regina Elena, Clinica Pediatrica De Marchi, Milano, ³Ospedale Pediatrico Bambin Gesù, Roma,

⁴Dip. di Patologia Umana dell'adulto e dell'età evolutiva Gaetano Barresi, Università di Messina, ⁵Istituto di Neuroscienze, Consiglio Nazionale delle Ricerche IN-CNR, Padova (FFC#20/2016, New)

Background and rationale. Cystic Fibrosis Related Diabetes (CFRD) is a frequent complication of Cystic Fibrosis. Affected patients may experience more severe pulmonary deterioration and nutritional decay even years prior to diagnosis. The most important cause is insufficient insulin secretion progressively worsening with age. The reasons and the development of this defect are currently under study.



Alberto Battezzati, titolare del progetto

Hypothesis and objectives. Probably, defects in insulin secretion already present at young age, predispose to both CFRD, nutritional and respiratory deterioration. We aim to create for the Italian CF population, reference values of glucose, insulin and C-peptide concentrations in response to OGTT, and of model-derived parameters of insulin secretion and insulin sensitivity. We should provide a better definition of the relationship of insulin secretory defects with age, sex, and new CF therapies.

Essential methods. The proposed strategy is: a) use OGTT as the experimental method because according to guidelines it should be performed annually and it allows simultaneous measurements of insulin secretory and sensitivity parameters b) propose reference values at a national level, sharing our previous single-center experience with centers from Central and Southern Italy c) analyse differences among patients CF pancreatic sufficient, CF pancreatic insufficient, the role of CF-associated liver disease and CF drugs use as predictors of the parameters under study, and the prevalence and symptoms of hypoglycaemia during OGTT

Preliminary results. From 2003 we have followed prospectively almost 300 patients with one thousand OGTTs (modified to quantify insulin secretory and sensitivity defects). In FC21-2013 project we have investigated the age and sex dependency of insulin secretory parameters as well as their importance in nutritional status and respiratory function.

Expected results and their significance. Nomograms adjusted for sex and age of the OGTT parameters will be powerful tools at the Italian level to describe the natural history of glucose tolerance defects in CF, to predict future CFRD, nutritional and respiratory decay, to identify patients with secretory defects and to set a rational basis for treatment. The project will promote awareness of CFRD and of the glucose tolerance defects that may be significant for the future outcomes, will clarify the issue of reactive hypoglycaemia that could be seen as a mild side effect of this procedure

Studio multicentrico italiano dei deficit di tolleranza glicemica in fibrosi cistica

Ragioni dello studio. Il diabete in fibrosi cistica(CFRD) è una complicanza frequente. I pazienti colpiti possono mostrare problematiche polmonari e nutrizionali più severe anche anni prima della diagnosi di diabete. Dipende da un deficit progressivo di secrezione insulinica. Le sue cause non sono chiare.

Ipotesi e obiettivi. Questo studio ipotizza che deficit di secrezione insulinica, già presenti in età precoce, predispongano successivamente a CFRD e a problematiche nutrizionali e respiratorie. Il nostro obiettivo è creare, per la popolazione italiana CF, valori di riferimento per le risposte glicemiche e insulinemiche e per i parametri di secrezione insulinica che ne possono essere derivati. Questo studio dovrebbe definire meglio la relazione dei deficit di secrezione insulinica con l'età, il sesso,e le nuove terapie della fibrosi cistica

Metodi essenziali. La strategia proposta: a) utilizzare OGTT come metodo sperimentale: perché le linee guida raccomandano che sia eseguito annualmente in tutti i pazienti, e perché permette di misurare simultaneamente la secrezione e la sensibilità insulinica b) proporre valori di riferimento a livello nazionale, condividendo la nostra esperienza con centri dell'Italia Centrale e Meridionale c) analizzare le differenze tra i pazienti con e senza insufficienza pancreatico, l'effetto dei nuovi farmaci, la prevalenza e i sintomi di ipoglicemia durante OGTT. Si tratta di uno studio osservazionale.

Risultati preliminari. Dal 2003 il centro di Milano ha avviato uno studio prospettivo locale che impiega il carico orale di glucosio (OGTT) per misurare la secrezione e la sensibilità insulinica. Grazie ad un precedente finanziamento (FC21-2013) abbiamo descritto la dipendenza dei parametri secretori dall'età e dal sesso, e la loro importanza per lo stato nutrizionale e la funzione respiratoria.

Risultati attesi e loro significato. Nomogrammi aggiustati per sesso ed età dei vari parametri a livello italiano, saranno potenti strumenti per descrivere la storia naturale delle alterazioni glicemiche in fibrosi cistica, per predire il futuro CFRD, le problematiche respiratorie e nutrizionali. Inoltre permetteranno di individuare i pazienti portatori di deficit di secrezione insulinica, a rischio di diabete, decadimento respiratorio e nutrizionale e per porre una base razionale al trattamento. Il progetto aumenterà la percezione clinica di CFRD e dei deficit di secrezione insulinica che possono influenzare la prognosi.

59. The use of Virtual Reality in the reduction of pain and anxiety during venipuncture in children with cystic fibrosis: a randomized controlled trial

Bisogni S¹, Neri S¹, Ciofi D², Festini F¹

¹Università degli studi di Firenze, Dipartimento di Scienze della Salute Umana, ²AOU Meyer, Firenze (FFC#21/2016, New)



Sofia Bisogni, titolare del progetto

Background and rationale. Children with Cystic fibrosis (CF) have to undergo several needle-related procedures for the monitoring of lung infections both for diagnostic and therapeutic aims. As shown in previous studies it is common for children to display distress, anticipatory pain, and behavioural problems during invasive procedures. In particular, children with CF, whom repeatedly receive venipuncture procedures, have a lower threshold of pain compared to non-chronic patients. Therefore, it is particularly important to minimize as much as possible the pain and discomfort caused by venipuncture in patients with CF. Different pharmacological and non pharmacological methods (NPM) are already widely used during needle related procedures to try to lower pain and distress. Distraction has been shown to be an effective non pharmacological technique and is one of the most recent adopted strategy. It is

a deeply sophisticated passive distraction system, which allows the child to shift attention from the painful stimuli to very realistic three-dimensional scenarios pleasant and relaxing. Finally, any studies have been published to assess its efficacy in reducing needle related pain and distress in children with CF.

Hypothesis and objectives. Evaluate the efficacy of Virtual Reality(VR) as a distraction technique during the procedure of venipuncture in children with CF in regards to anticipatory distress and pain.

Material, patients, methods. Children with CF, age from 7 to 13 with no visual deficiency, who undergo needle-related procedures, are consider eligible. Recruited patients will be assigned to "experimental group" or to "control group" by randomization. In both groups, will be applied 20 minutes before the venipuncture an anesthetic cream. Patients assigned to the experimental group will additionally be shown the headset for VR and a selection of age appropriate realities to immerge. Patients designated to control group receive standard care without the use of VR. Pain and anxiety will be measured in both groups before and after the procedures.

Methods. Randomized controlled parallel trial with a 1 to 1 allocation ratio.

Expected results and spin-offs. We expect a substantial reduction of pain and distress associated to venipuncture in the experimental group. This study could be the basis for the systematic adoption of virtual reality systems in all pediatrics departments.

Realtà virtuale vs cure standard per ridurre il dolore e l'ansia del prelievo venoso nei bambini con fibrosi cistica

Ragioni dello studio. Il monitoraggio delle infezioni polmonari nei pazienti con FC prevede che il paziente sia routinariamente sottoposto a venipuntura sia a scopo diagnostico che a scopo terapeutico. Precedenti studi dimostrano come per i bambini la venipuntura sia un evento altamente stressante, associata a dolore anticipatorio e distress comportamentale. In particolare, è stato dimostrato che i bambini affetti da una patologia cronica che ricevono ripetutamente la venipuntura sperimentano livelli di dolore superiori rispetto a bambini che si sottopongono a questa procedura per la prima volta. Per questo motivo è particolarmente importante nei soggetti affetti da FC minimizzare il più possibile il dolore ed il discomfort dovuti alla venipuntura. Per la riduzione del dolore da procedura sono disponibili sia tecniche farmacologiche che tecniche non farmacologiche (TNF). Tra queste ultime una delle tecniche più recenti è la realtà virtuale (RV). Si tratta di un sistema di distrazione passiva altamente sofisticato, che permette al bambino di spostare l'attenzione dallo stimolo doloroso verso scenari tridimensionali molto realistici piacevoli e rilassanti con cui può interagire. Attualmente non esistono studi in cui la RV sia stata applicata a pazienti con FC.

Obiettivi. Valutare l'efficacia della RV nella riduzione del dolore da venipuntura per prelievo ematico nei bambini affetti da FC.

Materiali e metodi. Sono considerati elegibili i bambini affetti da FC di età compresa tra 7 e 13 anni che non abbiano deficit visivi che debbano sottoporsi a venipuntura per prelievo ematico. I soggetti arruolati vengono randomizzati in egual numero nel braccio sperimentale o nel braccio di controllo. In entrambi i bracci viene applicata una crema anestetica 20 minuti prima dell'esecuzione della procedura in corrispondenza dell'area in cui verrà praticata la venipuntura. Il braccio sperimentale prevede che durante la venipuntura il bambino indossi il visore e visualizzi filmati di realtà virtuale. Nel braccio di controllo vengono applicate le cure standard senza l'impiego di VR. Dolore e ansia verranno misurati in entrambi i gruppi prima e dopo la procedura.

Disegno dello studio. Studio randomizzato controllato.

Risultati attesi. Ci si aspetta una sostanziale riduzione di ansia dolore e distress associato a venipuntura nel gruppo sperimentale.

Possibili ricadute. Questo studio pilota potrà costituire la base per l'adozione sistematica di sistemi di realtà virtuale in tutti i reparti di pediatria.

60. Environmental and human reservoirs of *Pseudomonas aeruginosa* and other bacterial species colonizing the lower airways of cystic fibrosis patients

Signoretto C

Dipartimento di Diagnosi e Salute Pubblica, Sezione di Microbiologia, Università di Verona (FFC#22/2016, New)



Caterina Signoretto, titolare del progetto

Background. There are evidences that the upper airways (nose, paranasal sinuses) and the oral cavity might be reservoirs of *Pseudomonas aeruginosa* (Pa) and other bacterial species causing infections in the CF lung. They can be considered as adaptation sites allowing bacteria to persist and then colonize the lower airways. The monitoring and eradication of the nasal and oral potentially pathogenic micro-flora in CF patients is then mandatory to avoid or postpone the emergence of a chronic lung infection

Objectives. To set up and validate a protocol for the recovery of bacterial nasal microflora by nasal lavage (NAL) both in CF adults and children. To evaluate the incidence of potentially pathogenic bacterial species in the nasal/paranasal district in a series of CF patients by monitoring NAL samples and to compare the paranasal micro-flora with the bacterial flora found in sputum. Evaluation the possibility that toothbrushes act as reservoirs of bacteria favoring colonization of the oral cavity in CF. Epidemiological investigation will be performed by comparing the molecular profiles of Pa strains isolates previously with those will be isolated during the present study

Essential methods. A total of 60 patients will be enrolled for this study. The patients will be divided in two different groups: i) Pa colonization free patients and ii) patients with Pa chronic infection. All patients will be followed for 15 months with visits and NAL and sputum sampling every 2/3 months. The 40 Pa free patients will be involved in the monitoring of the bacterial flora in the oral cavity and toothbrushes with sampling of saliva. Bacterial species isolated will be identified by biochemical

methods and molecular typing of isolated bacterial strains.

Expected results and spin-off. Validation of a NAL protocol for the recovery of bacteria from the nose and paranasal sinuses and opportunity to introduce it in the routine monitoring of specific categories of CF patients. Identification of bacterial environmental reservoirs/vehicles potentially able of CF oral cavity and upper airways colonization. To confirm the role of environmental and human reservoirs of bacterial flora able to colonize the lung to prevent or delay the onset of chronic infection in the lower respiratory tract. The identification of possible vehicles of transmission of environmental bacteria to the upper airways and oral cavity, such as toothbrushes to reduce the probability for CF patients to be colonized and infected.

Serbatoi ambientali e umani di *Pseudomonas aeruginosa* e altre specie batteriche in grado di colonizzare le basse vie respiratorie di pazienti con fibrosi cistica

Ragioni dello studio. Le vie respiratorie superiori e il cavo orale possono essere un serbatoio di *Pseudomonas aeruginosa* (Pa) e altre specie batteriche causa di infezione nel polmone di pazienti con fibrosi cistica (FC). Tali distretti sono considerati siti di adattamento che permettono ai batteri di colonizzare le basse vie respiratorie. Il monitoraggio e l'eradicazione della flora nasale e orale potenzialmente patogena è fondamentale per evitare o ritardare un'infezione polmonare cronica.

Obiettivi. L'obiettivo sarà di validare un protocollo di campionamento della flora nasale/paranasale mediante lavaggio nasale (LN) in pazienti FC adulti e pediatrici. Si determinerà l'incidenza delle diverse specie batteriche potenzialmente patogene nelle alte vie respiratorie e nel cavo orale comparandola con la flora isolata dall'escreato. Verrà valutata la possibilità che gli spazzolini dentali fungano da serbatoi di batteri favorendo la colonizzazione delle vie respiratorie. Il monitoraggio della flora delle alte vie respiratorie/cavo orale avrà lo scopo di evitare e/o ritardare l'insorgenza di infezione polmonare cronica. Sarà eseguita un'indagine epidemiologica comparando i profili molecolare dei ceppi di Pa isolati precedentemente con quelli isolati nel corso del presente studio.

Metodi. Si arruoleranno 60 pazienti FC: 40 senza infezione/colonizzazione da Pa e 20 con infezione cronica da Pa; saranno seguiti per 15 mesi con visite, campionamento di LN ed escreato ogni 2/3 mesi. I pazienti senza Pa saranno anche coinvolti nel monitoraggio della flora del cavo orale e degli spazzolini con un campionamento di saliva e ritiro dello spazzolino a ogni visita. Tutte le specie batteriche isolate saranno identificate e verrà eseguita la tipizzazione molecolare.

Risultati attesi e possibili ricadute. Validazione di un protocollo di LN per il recupero della flora batterica dal naso/ seni paranasali e possibilità di introdurlo nel monitoraggio dei pazienti FC. Proposta di linee guida per la raccolta/monitoraggio della flora batterica dei serbatoi nasali e paranasali. Possibilità di confermare il ruolo di serbatoi ambientali e umani di flora batterica in grado di colonizzare il polmone al fine di evitare o ritardare l'insorgenza di infezione cronica nelle basse vie respiratorie. Individuazione di possibili veicoli di trasmissione di batteri ambientali alle vie respiratorie superiori e al cavo orale, quali gli spazzolini, per ridurre la probabilità di colonizzazione e infezione.

PLENARY SESSION 6

INFECTION / INFLAMMATION

61. Cystic fibrosis modifier genes related to Pseudomonas aeruginosa lung disease (*)

Lorè IL¹, Sipione B¹, Mott R², Iraqi F³, Bragonzi A¹

¹Infection and Cystic Fibrosis Unit, Division of Immunology, Transplantation and Infectious Diseases, IRCCS - San Raffaele Scientific Institute, Milan, Italy, ² Division of Biosciences, UCL Genetics Institute, London, England, ³Department of Clinical Microbiology and Immunology, Sackler Faculty of Medicine, Tel Aviv University, Tel Aviv, Israel (FFC#9/2014, Completed)



Alessandra Bragonzi, al centro, con due collaboratori interni

Background. The remarkable heterogeneity among CF patients in the time of onset as well as in the severity of *P. aeruginosa* lung disease raised the question whether other genetic loci in addition to the CFTR can contribute to the clinical variation. Recently, Collaborative Cross (CC) mouse population has been generated as an innovative and powerful source to model the diversity of the human population.

Hypothesis and objectives. By using the CC lines as a novel and high genetically diverse mouse resource population, this project aims to identify genetic factors that may influence the severity of *P. aeruginosa* respiratory infections in CF.

Methods. 39 CC lines were challenged with *P. aeruginosa* and recorded for disease phenotypic traits of morbidity and mortality, as markers for disease progression. Quantitative trait locus (QTL) mapping associated with host susceptibility to *P. aeruginosa* was performed.

Results. Our data demonstrated that level of *P. aeruginosa* pneumonia infection is controlled by host genetic determinants, which impact on disease severity. Comprehensive analysis of CC mice showed that initial variables including, body weight, age and gender have a limited influence on *P. aeruginosa* outcome, emphasizing the role of complex genetic traits in the severity of infection. Survival time and weight lost were considered markers for mortality and morbidity as associated disease phenotypic traits, and subsequently were used for QTL mapping. A significant locus was mapped on chromosome 3 and was named *Pseudomonas* respiratory infection resistant locus (Prlrl2). Within this genetic locus, 14 candidate genes, including those related to host defense and immunity were ranked and considered as promising candidate gene modifiers for validation.

Spin-off for research & clinical purposes. We set up an innovative approach as CC mice to investigate the effect of the host genetic makeup on the *P. aeruginosa* disease establishment and progress. Our results can be translated into human population to identify novel modifier genes that can be used as predictive factors of clinical outcome in CF patients and may open the possibility of new therapeutic approaches.

Geni modificatori legati alla malattia polmonare da *Pseudomonas aeruginosa* in fibrosi cistica

Ragioni dello studio. La notevole eterogeneità nell'insorgenza dell'infezione batterica e nella gravità della malattia polmonare in pazienti FC e l'assenza della malattia polmonare nei topi CFTR-KO solleva la questione se altri loci genetici al di fuori del CFTR possano indurre variazioni nella risposta immunitaria a *P. aeruginosa* e nella gravità della malattia.

Ipotesi e obiettivi. L'obiettivo principale del progetto è definire i fattori genetici che influenzano la gravità della mutazione CFTR, utilizzando una nuova popolazione di topi caratterizzati da un'alta variabilità genetica, i Collaborative Cross (CC). Questi animali sono considerati un importante strumento per rappresentare la variabilità fenotipica e genotipica della popolazione umana.

Metodi. I topi CC sono stati caratterizzati per la suscettibilità all'infezione da *P. aeruginosa* al fine di mappare i determinanti genetici associati alla malattia FC.

Risultati. I nostri risultati dimostrano per la prima volta che la risposta all'infezione da *P. aeruginosa* è influenzata principalmente da fattori genetici dell'ospite. Il peso corporeo al momento dell'infezione, l'età e il sesso hanno una limitata influenza sul potenziale rischio di infezione da *P. aeruginosa*, sottolineando il ruolo dei tratti genetici complessi nella gravità dell'infezione nel nostro modello. Abbiamo mappato sul cromosoma 3 murino un locus genetico responsabile della patologia polmonare in seguito ad infezione da *P. aeruginosa*. All'interno di questo locus chiamato "Pseudomonas respiratory infection resistant locus (Prlrl1)", sono stati identificati 14 geni potenzialmente responsabili alla suscettibilità all'infezione da *P. aeruginosa*. Questi 14 geni candidati sono coinvolti nelle difese immunitarie e sono considerati promettenti per la validazione nei campioni umani, poiché il locus genetico murino risulta essere strutturalmente simile a quello umano sul cromosoma 1.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. I geni identificati in questo progetto possono essere validati come geni modificatori della progressione della malattia polmonare CF ed infezione da *P. aeruginosa*.

62. A CF IL-8 transgenic mouse model for the *in vivo* long-term monitoring of the anti-inflammatory role of metallo-protease inhibitors and antibiotics with mechanisms of action similar to that of azithromycin (*)

Sandri A¹, Bergamini G¹, Ortombina A¹, Boschi F², Sorio C³, Melotti P⁴, Stellari F⁵, Lleò MM¹

¹Dipartimento di Diagnostica e Salute Pubblica, Sezione di Microbiologia, ²Dipartimento di Informatica, ³Dipartimento di Medicina, Sezione Patologia, Università di Verona, Italy;

⁴Centro Regionale per la Fibrosi Cistica, AOUI Verona, Italy;

⁵Dipartimento di Farmacologia e Tossicologia, Chiesi Farmaceutici, Parma, Italy (FFC#10/2015, Completed)

Background. The possibility of monitoring the inflammatory response in a IL-8 transgenic WT and CFTRknockout (CF), non invasive, animal model has been demonstrated in a previous project conducted by us [1, 2].

Hypothesis and objectives In the past project we shown that the antibiotic azithromycin causes a significant decrease of the lung inflammation in that is capable of inhibiting the



Maria M. Lleò, titolare del progetto

synthesis of bacterial virulence factors. Azithromycin is extensively used in cystic fibrosis as an anti-inflammatory molecule but several cases of azithromycin resistance have been reported [3], especially in patients using the drug for long times. It seems then important to identify other therapeutic agents to be used in nonresponding patients.

Methods We have used the IL-8 transgenic CF mouse model to monitoring the expected significant reduction of the pro-inflammatory response induced by *Pseudomonas* metalloproteases (MPs) by using protease inhibitors such as Galardin and other approved drugs for human use, namely Marimastat and the antibiotic Doxycycline. As an alternative or complementary approach it has been also analyzed the possible anti-inflammatory activity of antibiotics with a mechanism of action similar to that of AZM and used in CF such as clarithromycin (CLAR) and tobramycin (TOB).

Results In this study, it has been demonstrated that Galardin and Marimastat, but not Batimastat or doxycycline, have inhibitory activity against the pro-inflammatory MPs released by *P. aeruginosa* during growth thus causing a decrease of lung inflammation in WT and CF mice. A significant reduction of pulmonary inflammation in CF mice has been also obtained by growing *Pseudomonas aeruginosa* in the presence of sub-MIC doses of clarithromycin, and antibiotic with a mechanism of action similar to that of azithromycin. Clarithromycin in fact is capable of blocking the synthesis of several *Pseudomonas* virulence factors, namely pyoverdine, pyocyanin and metalloproteases. The transgenized IL-8, CF mouse model has been further validated in this study.

Spin-off for research & clinical purposes The model reveals an interesting tool to the monitoring of the inflammatory process in CF induced by infective and non-infective causes and to test in vivo the antibacterial/anti-inflammatory effect of candidate molecules to be used in cystic fibrosis. Its use allowed us to uncover the anti-inflammatory properties of three drugs already in clinical use for purposes other than treating lung inflammation.

Un modello di topo transgenico IL-8, CF per il monitoraggio in vivo e a lungo termine dell'effetto anti-infiammatorio di inibitori delle metalloproteasi e di antibiotici con meccanismo d'azione simile a quello della azitromicina

Ragioni dello studio. In un progetto precedente avevamo dimostrato la possibilità di utilizzare un modello di topo transgenico con fibrosi cistica per monitorare in vivo ed in forma non invasiva l'infiammazione polmonare. L'infiammazione veniva indotta con prodotti derivati dal batterio *Pseudomonas aeruginosa* e bloccata mediante trattamento del batterio con l'antibiotico azitromicina che possiede proprietà anti-infiammatorie.

Ipotesi ed obiettivi. Questo antibiotico è frequentemente utilizzato in fibrosi cistica ma in alcuni casi il paziente con

infezione polmonare cronica non risponde al trattamento, specialmente se utilizza l'antibiotico da molto tempo. Divenuta per tanto importante avere a disposizione alternative terapeutiche nei casi di resistenza alla azitromicina.

Metodi. Nello studio appena terminato abbiamo valutato due approcci alternativi analizzando l'effetto anti-infiammatorio di due tipi di molecole già in utilizzo clinico per scopi diversi del trattamento dell'infiammazione polmonare: i) antibiotici con meccanismo di azione simile a quello dell'azitromicina (claritromicina e tobramicina) e ii) inibitori dell'attività enzimatica delle metalloproteasi umane (Galardin, Batimastat, Marimastat e dossiciclina), essendo le metalloproteasi batteriche uno dei fattori di virulenza di *Pseudomonas* in grado di indurre risposta infiammatoria nel polmone.

Risultati. Sono state dimostrate le proprietà anti-infiammatorie di 3 delle 6 molecole studiate, sia in vitro dimostrandone il loro effetto inibitorio della sintesi dei fattori di virulenza di *Pseudomonas* (claritromicina) o della loro attività enzimatica (Galardin e Marimastat), sia in vivo osservando una significativa diminuzione dell'infiammazione polmonare indotta dai prodotti batterici tanto nel topo sano come nel topo con fibrosi cistica.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. Tale molecole potrebbero essere una alternativa valida e rapidamente utilizzabile, perché già idonee all'utilizzo terapeutico, ad anti-infiammatori per il quali sono stati riscontrati problemi di resistenza. Lo studio ha anche permesso di ulteriormente validare il modello animale che si è rilevato particolarmente interessante in quanto consente di lavorare a lungo con gli stessi animali eliminando in questo modo gli effetti della variabilità tra i topi ed il problema della reperibilità dei topi FC e per la facilità di utilizzo essendo un metodo non invasivo per gli animali.

63. Anti-inflammatory and anti-bacterial activity of bovine lactoferrin administered by aerosol in airway infections of pre-clinical wt and CF mouse models (*)

Berlutti F

Dip. di Salute Pubblica e Malattie Infettive - Università La Sapienza, Roma (FFC#12/2015, Completed)



Francesca Berlutti, titolare del progetto

Background. In the airways, the CFTR genetic defect leads to dysregulation of inflammatory and iron homeostasis that precedes bacterial infection that, in turn, worsens host damage. Lactoferrin (Lf), an iron-chelating glycoprotein of the innate immunity present in airway secretions and secreted by neutrophils in infection/inflammation sites, in addition to the well-known antibacterial activity exerts a key role in inflammatory and iron homeostasis.

Hypothesis and objectives. We suppose that aerosolized bLf can exert a key role on inflammatory and iron dysregulation

and reduce infection in pre-clinical CF mouse models of lung infection. Moreover, since Lf is a natural molecule, it shows no side effects and toxicity. In this study we employed bovine milk derived Lf (bLf) as it has been yet used in several clinical trials. Since in CF airways human and bacterial proteases may alter Lf integrity reducing its activity, we hypothesize that nano-delivery of bLf can protect the molecule against proteolysis. The objectives are: 1- to evaluate anti-inflammatory and antibacterial activities of bLf administered by aerosol in mouse models of chronic lung infection; 2- to prepare bLf-loaded nanoparticles (bLf-NANOs) to be aerosolized.

Methods. Bronchial CF cells were used in *in vitro* experiments; C57BL/6N, CFTR KO and isogenic mice were employed in *in vivo* studies. Bacterial infections were carried out using *P. aeruginosa* strains.

Results. In mouse models of acute and chronic *P. aeruginosa* lung infections aerosol administration of bovine Lf (bLf) significantly reduced inflammation, improved the mouse health, and suggested a role in iron homeostasis. Preliminary results in CFTR KO mice seem to confirm the beneficial role of bLf already demonstrated in WT mice and suggest a significant antibacterial activity. The formulation of bLf-NANOs to be aerosolized was optimized and bLf-NANOs were partially characterized. In particular, the stability of bLf-NANOs was shown

Spin-off for research & clinical purposes. This study represents the basis for the development of a preparation for human use to be tested in clinical trial(s).

Effetti della somministrazione per aerosol della lattoferrina bovina in soluzione e nanoveicolata in modelli murini di infezione polmonare

Ragioni dello studio. Nelle vie aeree dei soggetti con FC i disordini dell'omeostasi dell'infiammazione e del ferro determinano danno cellulare e facilitano l'infezione batterica. La lattoferrina (Lf), una glicoproteina chelante il ferro dell'immunità innata, presente nelle secrezioni e secreta dai neutrofili nei siti d'infezione e infiammazione, può rappresentare un promettente approccio terapeutico poiché svolge un importante ruolo anti-infiammatorio ed antibatterico. Tuttavia la presenza nelle vie aeree dei soggetti con FC di proteasi batteriche e umane può alterare la Lf riducendone l'attività.

Ipotesi ed obiettivi. Ipotizziamo quindi che la somministrazione per aerosol della Lf aumenti le difese innate e migliori lo stato infiammatorio e infettivo. Inoltre, essendo una molecola naturale prodotta dall'organismo umano, la Lf è priva di effetti collaterali e secondari. Per questo studio è stata impiegata la Lf derivante dal latte bovino (bLf) in quanto già utilizzata in numerosi studi clinici. Inoltre, ipotizziamo che la bLf possa essere veicolata in nanoparticelle per proteggerla dall'azione delle proteasi batteriche e umane presenti nelle secrezioni delle vie aeree. Intendiamo quindi: 1-valutare l'attività anti-infiammatoria ed antibatterica della bLf somministrata per aerosol in modelli murini di infezione polmonare cronica; 2- preparare delle nanoparticelle caricate di Lf (NANO-bLf) ed ottimizzarne la formulazione per la somministrazione per aerosol.

Metodi. Negli studi *in vitro* sono state impiegate cellule bronchiali FC e, in quelli *in vivo*, topi normali (WT, wild type) e FC. Negli esperimenti *in vitro* sono state valutate le proprietà biologiche delle NANO-bLf. Negli esperimenti *in vivo*, topi WT e CF con infezione polmonare da *P. aeruginosa* sono stati trattati per aerosol con bLf. Sono state valutati gli effetti sull'infiammazione e sull'infezione batterica.

Risultati. In modelli murini WT d'infezione polmonare acuta e cronica, la somministrazione per aerosol della bLf riduce significativamente l'infiammazione e migliora la salute degli animali. Studi preliminari condotti su topi FC confermano i dati ottenuti sui topi WT indicando che la somministrazione per aerosol di bLf esercita una potente azione antiinfiam-

matoria e migliora lo stato generale di salute degli animali. La formulazione delle NANO-bLf è stata ottimizzata e le NANO-bLf sono state parzialmente caratterizzate. In particolare è stata dimostrata la loro stabilità per l'aerosolizzazione.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. Questo studio rappresenta la base per lo sviluppo di un prodotto per uso umano.

64. Mitochondrial Ca²⁺-dependent inflammasome activation exacerbates the *P. aeruginosa*-driven inflammatory response (*)

Rimessi A¹, Patergnani S¹, Giorgi C¹, Marchi S¹, Bonora M¹, Bragonzi A², Cabrini G³, Pinton P¹

¹Dept of Morphology, Surgery and Experimental Medicine, Section of Pathology, Oncology and Experimental Biology, Interdisciplinary Center for the Study of Inflammation (ICSI), Laboratory for Technologies of Advanced Therapies (LTAA), University of Ferrara, Italy, ²Cystic Fibrosis animal core facility, San Raffaele Scientific Institute, Milano, Italy, ³Laboratory of Molecular Pathology; Department of Pathology and Diagnostics, University-Hospital of Verona, Italy (FFC#19/2014, Completed)



Paolo Pinton, titolare del progetto, terzo da destra, con i collaboratori interni

Background. The chronic airway infection by *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) in Cystic Fibrosis (CF) is a pathological manifestation associated with an excessive inflammatory response. The NOD-like receptors (NLRs) are intracellular pattern-recognition receptors that recognize pathogen-associated molecular patterns activating pro-inflammatory response through the assembly of large caspase-1-activating complex, called inflammasome. Recent data suggest that the mitochondria integrate distinct pro-inflammatory signals and relay this information to a key molecular complex related to inflammation, the inflammasome. It has been demonstrated that mitochondria are the main source of inflammasome-activating radical species and as such may constitute the signal-integrating organelle for inflammasome recruitment and activation in *P. aeruginosa*-driven inflammation in CF. Moreover, in the previous project we have demonstrated that mislocalized CFTR is associated with an increase in intracellular Ca²⁺ content and that it favored the mitochondrial Ca²⁺ uptake, predisposing the organelle to a major stress responsibility.

Hypothesis and objectives. The overall goal of this project is to broaden our knowledge on role of mitochondria to decode and integrate the pro-inflammatory signals generated during *P. aeruginosa* infection in CF. We have performed experiments aimed at obtaining a deeper insight into the complex mechanism that controls the mitochondrial homeostasis, in particular the Ca²⁺ signal, and the inflammasome activation induced by pathogen in CF.

Methods. The mitochondrial dysfunction is direct link between *P. aeruginosa* infection and inflammasome recruit-

ment in CF epithelial airways cells. On these topics: Ca²⁺ signaling and mitochondrial function; the expertise gained and the previous works by the PI and collaborators represent the methodological and cultural background of this grant.

Results. Summarizing, in these two years we have demonstrated that: *P. aeruginosa* affects mitochondrial Ca²⁺ signaling and physiology. Flagellin is an inducer of mitochondrial dysfunction. The degree of *P. aeruginosa*-dependent inflammatory response depends on defective CFTR. *P. aeruginosa* promotes NLRP3 activation in CF cells. Mitochondrial Calcium Uniporter (MCU) links *P. aeruginosa*-dependent mitochondrial dysfunction to NLRP3 activation.

Spin-off for research and clinical purposes. The translational aim of this project is identified alternative strategy for treating exacerbated *P. aeruginosa*-triggered inflammation in CF. Our results indicate MCU as target for therapeutic approach focused to rescue the mitochondrial physiology, counteracting tissue degeneration and mitigating the inflammatory response.

Il Ca²⁺ mitocondriale media l'attivazione dell'inflammasoma esasperando la risposta infiammatoria nell'infezione da *Pseudomonas aeruginosa*.

Ragioni dello studio. L'infezione cronica polmonare di *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) in Fibrosi Cistica (FC) è una condizione patologica associata a un'eccessiva risposta infiammatoria. I NOD-like recettori (NLRs) sono proteine in grado di riconoscere costituenti associati al patogeno promuovendo la risposta pro-infiammatoria attraverso l'assemblaggio di complessi molecolari caspasi-1 dipendenti chiamati inflammasomi. Dati recenti suggeriscono che i mitocondri integrano distinti segnali proinfiammatori e forniscano queste informazioni a una struttura molecolare che controlla l'infiammazione chiamata inflammasoma. I mitocondri sono la principale fonte di radicali liberi (attivatori dell'inflammasoma) e quindi possono giocare un ruolo chiave per il reclutamento e l'attivazione dell'inflammasoma nell'infezione promossa da *P. aeruginosa* in CF. In un precedente progetto avevamo dimostrato che l'alterata espressione del canale CFTR è associata a un incremento intracellulare della concentrazione Ca²⁺ favorendo l'accumulo dello ione all'interno di mitocondri. Questa condizione predisporrebbe i mitocondri a una maggiore responsività agli stress.

Ipotesi e obiettivi. L'obiettivo generale di questo progetto è quello di ampliare le nostre conoscenze sul ruolo del mitocondrio nel decodificare e integrare i segnali pro-infiammatori generati durante l'infezione da *P. aeruginosa* in CF. Abbiamo condotto esperimenti finalizzati a ottenere una più profonda comprensione del complesso meccanismo che controlla l'omeostasi mitocondriale, in particolare il segnale Ca²⁺, e l'attivazione dell'inflammasoma indotta dal patogeno in CF.

Metodi. La disfunzione mitocondriale è il link diretto tra l'infezione da *P. aeruginosa* e il reclutamento dell'inflammasoma in cellule umane epiteliali bronchiali FC. Su questi temi: Ca²⁺ e funzione mitocondriale; l'expertise accumulata e i precedenti lavori pubblicati dal PI e dai suoi collaboratori rappresentano le basi metodologiche e culturali di questo progetto.

Risultati. Riassumendo, in questi due anni abbiamo dimostrato che: -*P. aeruginosa* altera il segnale Ca²⁺ mitocondriale e la fisiologia dell'organello. Il costituente batterico, Flagellina, è responsabile della disfunzione mitocondriale. Il grado della risposta infiammatoria innescata dal patogeno dipende dall'espressione del canale CFTR. *P. aeruginosa* promuove l'attivazione dell'inflammasoma NLRP3 in cellule CF. Mitochondrial Calcium Uniporter (MCU) è il link tra la disfunzione mitocondriale promossa dal patogeno e l'attivazione dell'inflammasoma.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. Lo scopo traslazionale di questo progetto è l'identificazione di strategie alternative per il trattamento dell'eccessiva risposta infiammatoria innescata da *P. aeruginosa* in FC. I nostri risultati indicano che

MCU può essere il bersaglio di approcci terapeutici mirati a salvaguardare la fisiologia mitocondriale, contrastando la degenerazione tissutale e mitigando la risposta infiammatoria.

65. The role of Glucocerebrosidase GBA2 in cystic fibrosis lung inflammation: from molecular mechanism to therapeutic strategies (*)

Aureli M¹, Loberto N¹, Bassi R¹, Schiumarini D¹, Munari S², Valsecchi M¹, Cantù L¹, Brocca P¹, Motta S¹, Ferrami G¹, Dechechchi C², Sonnino S¹

¹Department of Medical Biochemistry and Translational Medicine, University of Milano, ²Laboratory of Molecular Pathology-Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona, (FFC#24/2014, Completed)



Sandro Sonnino, titolare del progetto

Background. Several studies indicate that sphingolipids (SL) play a regulatory role in airway inflammation, the most critical aspect of CF lung disease. Recently, Ceramide (Cer) derived from glycosphingolipids (GSL) has gained more interest since inhibition of the glucocerebrosidase GBA2 and its down-regulation by siRNA, are associated with a significant reduction of IL-8 after *P. aeruginosa* (PAO) infection, as well as a reduction of the intrinsic inflammatory state in CF human epithelial bronchial cells (CFhEBC).

Hypothesis and Objectives. In our work hypothesis, the aberrant inflammatory response to PAO in CFhEBC starts from alterations in the lipid composition of specific plasma membrane (PM) macromolecular complex by the action of the GSL-hydrolases associated with the cell surface, including GBA2. To figure out the possible molecular mechanism we investigated the effect of PAO infection on specialized membrane area called lipids rafts. Moreover, with the aim to develop a new anti-inflammatory treatment we developed new lipid based-nanoparticles for the delivery of siRNA targeting GBA2.

Methods. In CFhEBC and control cells we evaluated the effect of PAO infection on: i) SL hydrolases activities, ii) SL pattern, and iii) lipid rafts organization. The lipid-based nanoparticles used for GBA2 silencing were characterized both for their biophysical properties and GBA2 knocking down efficacy.

Results. The data obtained further support the role of GBA2 in the inflammatory response upon PAO infection. Moreover, we found that in CFhEBC PAO causes a recruitment of PM-associated GSL-hydrolases into lipids rafts. At this site, the enrichment of enzymes involved in GSL catabolism causes a reduction of the ganglioside GM1 and sphingomyelin, which is paralleled by increased levels of GlucosylCer and Cer both events responsible for the activation of the inflammatory response. In addition we developed lipid-based non viral nanovectors (NP) able to silencing GBA2 in vitro for up 8 days with any toxicity for the cells. By X-ray analysis, we identified the most promising NP structure in order to penetrate CF mucus.

Spin-off for research & clinical purposes. The identification of GBA2 as well as other GSL-hydrolases as possible molecular targets related to the inflammatory response and the development of an innovative NP-based approach for their silencing could represent an important amelioration of the therapeutic strategies in CF.

Ruolo della Glucocerebrosidasi GBA2 nell'infiammazione polmonare in fibrosi cistica: dal meccanismo molecolare a nuove strategie terapeutiche

Ragioni dello studio La membrana plasmatica (MP) delle cellule è costituita da una particolare classe di lipidi coinvolti nella regolazione del segnale cellulare: gli sfingolipidi (SL). Numerosi studi indicano un importante ruolo degli SL nell'infiammazione che caratterizza la patologia polmonare della Fibrosi Cistica (FC). In particolare il Ceramide (Cer), derivante dalla degradazione di SL più complessi, sembrerebbe essere fortemente coinvolto nel determinare lo stato pro-infiammatorio e l'elevata risposta infiammatoria causata dalle infezioni polmonari in FC. Recentemente abbiamo dimostrato che, in cellule epiteliali bronchiali umane difettive in CFTR (CFhEBC), lo spegnimento di GBA2, un enzima che porta alla formazione di Cer, è in grado di determinare una significativa riduzione dello stato infiammatorio basale e della risposta infiammatoria a *Pseudomonas aeruginosa* (PAO).

Ragioni dello studio La nostra ipotesi è che l'infezione con PAO induca nelle CFhEBC un cambiamento nella composizione in SL all'interno di specifiche aree della MP a seguito dell'azione di enzimi come GBA2 e che ciò determini un mal funzionamento nella trasmissione del segnale cellulare con conseguente attivazione della risposta infiammatoria. Ci siamo quindi concentrati sullo studio degli effetti di PAO sulla MP e sulla possibilità di sviluppare nuovi sistemi farmacologici per bloccare la produzione di GBA2 grazie all'utilizzo di siRNA.

Metodi Utilizzando CFhEBC abbiamo valutato l'effetto dell'infezione con PAO sulla composizione lipidica e proteica delle aree di membrana coinvolte nella regolazione del segnale cellulare. L'efficacia dei nuovi sistemi siRNA è stato valutato sia in termini di efficacia nel bloccare GBA2 che come riduzione della risposta infiammatoria.

Risultati I dati ottenuti mostrano che l'infezione con PAO causa il reclutamento in particolari aree di membrana di enzimi come GBA2, capaci di degradare gli SL complessi e produrre Cer proinfiammatorio. Inoltre, siamo riusciti a sviluppare un sistema di trasporto per i siRNA contro GBA2 che ha dato buoni risultati sulle CFhEBC in termini di spegnimento di GBA2, mantenendo il suo effetto per 8 giorni.

Possibili ricadute per la ricerca clinica L'identificazione di GBA2 come possibile bersaglio molecolare e lo sviluppo di un approccio innovativo per ridurre l'infiammazione polmonare in FC attraverso il suo spegnimento potrebbe rappresentare un importante avanzamento nelle strategie terapeutiche della FC.

66. Impaired secretory IgA and mucosal immunity in cystic fibrosis: contribution to lung pathology and impaired defence against bacterial infection, and role of CFTR-related epithelial changes in the regulation of the receptor-mediated IgA transcytosis (*)

Pilette C¹, De Rose V², Gohy S²

¹Université Catholique de Louvain, Brussels, ²Dip. di Scienze Biologiche e Cliniche, Università di Torino (FFC#26/2014, Completed)



Charles Pilette, titolare del progetto, e Virginia De Rose dell'unità Partner

Background. Cystic fibrosis (CF) represents the most common lethal autosomal recessive disorder in the white population, mainly affecting the lungs. It affects the Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator (CFTR) gene, which encodes a protein expressed on the apical membrane of airway epithelial cells, where it acts as a cAMP-dependent chloride channel and regulator of other channels, including the epithelial Na⁺ channel (ENaC). Airway colonization of the airways and lung infections are a hallmark of this disease, in particular with *Pseudomonas aeruginosa* (PA) that affects ~70% of CF patients and is associated with poor clinical outcomes. However, the mechanisms underlying the persistence of pathogens in CF airways, remain largely unclear. Secretory-immunoglobulin A (S-IgA) is a major line of mucosal defense, through so-called immune exclusion of inhaled / ingested antigens and pathogens. Following synthesis of polymeric (mainly dimeric) IgA by subepithelial mucosal plasma cells, IgA is transported across the epithelium by a transcellular routing mediated by the polymeric immunoglobulin receptor (pIgR).

Hypothesis and objectives. This project aims to investigate whether the production of secretory IgA (S-IgA) is impaired in the CF lung, through which mechanisms, and whether this defect contributes to the pathogenesis of CF by impairing immunoprotection against respiratory pathogens such as PA.

Methods. pIgR expression was assessed in CF and control lung explants by immunohistochemistry. S-IgA and PA-specific antibodies were assessed by ELISA in CF and control sputum, and correlated to the microbial status according to Lee's criteria. The regulation of pIgR expression following CFTR disruption by selective inhibitors was also assessed in primary cultures of human bronchial epithelial cells (HBEC).

Results. Broncho-epithelial pIgR expression was upregulated in CF lungs as compared to controls. Accordingly, total IgA and PA-specific IgA were increased in sputum from CF patients, as compared to control subjects. In contrast, pIgR/SC production by cultured HBEC was inhibited following CFTR inhibition. Altogether, these data indicate that lung S-IgA immunity is preserved in CF, whereas in vitro CFTR disruption leads to pIgR downregulation. The mechanisms of CFTR-pIgR interactions will be explored, as well as the relevance of these findings to CF pathogenesis.

Compromissione del sistema delle IgA secretorie ed immunità mucosa nella fibrosi cistica: ruolo nella patologia polmonare e nella suscettibilità all'infezione batterica, e ruolo delle alterazioni epiteliali correlate al difetto di CFTR nella regolazione della "transcitosi" recettore-mediata delle IgA

Razionale del progetto. La fibrosi cistica (FC) è la più comune malattia genetica autosomica recessiva a prognosi infastida nella razza caucasica; la malattia polmonare è la principale causa di morbilità e mortalità legate alla malattia.

tia. La fibrosi cistica è causata dalla mutazione di un gene che codifica per una proteina chiamata "Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator" (CFTR) espressa sulla superficie apicale delle cellule epiteliali delle vie aeree, la cui principale funzione è quella di rappresentare un canale del cloro regolato da cAMP e di regolare altri canali, tra cui il canale epiteliale del sodio (EnaC). L'infezione cronica bronchiale, in particolare da *P. aeruginosa*, caratterizza la malattia polmonare; essa interessa circa il 70% dei pazienti adulti e condiziona negativamente la prognosi. I meccanismi responsabili della persistenza dell'infezione cronica nei pazienti con fibrosi cistica non sono ancora oggi chiaramente definiti. Le IgA secretorie (S-IgA) rappresentano uno dei principali meccanismi di difesa a livello polmonare; attraverso il legame con il recettore epiteliale poli-Ig (plgR), esse vengono trasportate nelle secrezioni dove svolgono la loro funzione attraverso il processo cosiddetto di "esclusione immune" dei microrganismi patogeni.

Obiettivi dello studio. Questo studio ha lo scopo di valutare se la produzione di S-IgA è compromessa nei pazienti con fibrosi cistica e di studiare i meccanismi responsabili di tale eventuale compromissione, nonché di definire se l'eventuale difetto di S-IgA contribuisca allo sviluppo dell'infezione batterica cronica e della patologia polmonare nella fibrosi cistica.

Metodi. L'espressione del recettore epiteliale plgR è stata

valutata in campioni di tessuto polmonare ottenuti da pazienti con FC e da soggetti di controllo, con l'impiego di analisi immunoistochimica. I livelli di S-IgA totali e specifiche per *P. aeruginosa* sono stati determinati in campioni di escreato di pazienti con FC e di controlli mediante tecnica ELISA e correlati con la presenza o assenza di infezione bronchiale intermittente o cronica. Sono stati anche studiati i meccanismi di regolazione dell'espressione di plgR in culture di cellule epiteliali bronchiali umane primarie trattate con inibitori selettivi di CFTR.

Risultati. L'espressione di plgR a livello dell'epitelio bronchiale è risultata aumentata nei polmoni di pazienti con FC rispetto a quelli dei soggetti di controllo. Parallelamente, i livelli di IgA totali e specifiche per *P. aeruginosa* risultavano aumentati nell'escreato di pazienti con FC rispetto ai soggetti di controllo. Al contrario, la produzione di plgR/SC da parte delle cellule epiteliali bronchiali primarie in coltura era inibita dopo trattamento con inibitori di CFTR. Nel complesso, i risultati ottenuti sembrano evidenziare che l'immunità mediata dalle S-IgA è preservata nelle vie aeree dei pazienti con FC, mentre la disfunzione della proteina CFTR porta ad una riduzione dell'espressione di plgR in vitro. Si stanno attualmente studiando i meccanismi che regolano l'interazione tra CFTR e plgR, così come la rilevanza dei risultati ottenuti nella patogenesi della FC.

PLENARY SESSION 7

CLINICAL AND AROUND ISSUES

67. GSH inhalation therapies in CF: how useful, how safe? Set-up of a CF murine model for monitoring of inflammation in vivo and assessment of convenient alternatives (*)

Corti A¹, Melotti P², Sorio C³, Bergamini G³, Hector A⁴, Griese M⁵, Pompella A¹

¹Department of Translational Research NTMC, University of Pisa, Italy, ²Cystic Fibrosis Center, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona, Verona, Italy, ³Department of Pathology & Diagnostics, University of Verona, Italy, ⁴University of Tübingen Children's Hospital, Tübingen, Germany, ⁵Children's Hospital, Ludwig-Maximilians-University Munich, Germany (FFC#18/2014, Completed)



Alessandro Corti, titolare del progetto

Background. Inhalation treatments with glutathione (GSH) have gained interest among CF patients. GSH is a primary antioxidant whose levels are significantly decreased in lungs during inflammatory processes. However the results attained so far remain disappointing. One of the possible reasons may lie in the fact that CF lungs often present with increased levels

of gammaglutamyltransferase (GGT), an enzyme secreted by inflammatory cells, capable of degrading GSH.

Hypothesis and objectives. The hypothesis to be verified was whether the different levels of airways GGT in CF patients might modulate the effects of GSH-based therapies. It is of importance to clarify whether GSH inhalation therapies are truly beneficial, useless or even – in selected conditions – potentially dangerous.

Methods. Sputum samples from CF patients undergoing GSH inhalation treatments have been analyzed for GGT content and clinical and biochemical responses were correlated with GGT activity. In vitro experiments were performed with a CFTR-mutated cell line and a CF mouse model transiently transgenized with a human IL-8 promoter/luciferase reporter gene was set up.

Results. The analysis of approx. 190 samples confirmed the presence of heterogeneous levels of GGT in CF sputum. GGT activity correlates with neutrophil elastase and with the products of GGT-mediated GSH catabolism. GSH treatment did significantly reduce sputum levels of IL-8, TNF- α and IL-1 β but only in subjects presenting with a regression of inflammation. An increase in GGT levels during GSH therapy was associated with higher levels of an oxidative stress marker (protein carbonyls). The latter effect could be mediated by sputum GGT. Experiments in vitro confirmed the potential role of GGT in promoting prooxidant reactions, whereas the in vivo model allowed us to study the activation status of NF- κ B factor. Further studies will likely allow to elucidate the exact role of GGT in airway inflammation.

Spin-off for research & clinical purposes. Our data demonstrate that sputum GGT activity correlates with neutrophilic inflammation in CF airways. Differentiating patients with increasing/decreasing GGT activity may discriminate subjects with resolving inflammation – more likely profiting from inhaled GSH – from those with exacerbation of inflammation – in which GSH might even produce aggravation of the damage. Future studies should consider the actual inflam-

matory status of the airways when anti-inflammatory treatments are targeted.

Terapie inalanti con glutazione in fibrosi cistica: quanto sono utili, quanto sicure? Messa a punto di un modello murino di fibrosi cistica per il monitoraggio dell'infiammazione in vivo e la valutazione di trattamenti alternativi

Ragioni dello studio. Tra le altre terapie antiinfiammatorie, si sono diffuse da tempo tra i pazienti FC quelle inalanti miranti a ricostituire nei fluidi bronchiali le riserve di glutattione (GSH). Il GSH è infatti un antiossidante che viene consumato durante i processi infiammatori. I risultati ottenuti finora rimangono però deludenti. Uno dei motivi può essere il fatto che i polmoni FC spesso presentano elevati livelli di gammaglutamiltransferasi (GGT), un enzima secreto dalle cellule infiammatorie capace di degradare il GSH.

Ipotesi e obiettivi. È probabile che i diversi livelli di GGT presenti nelle vie respiratorie possano modificare l'effetto di terapie a base di GSH. Va chiarito cioè se la terapia inalatoria con GSH sia realmente benefica, del tutto inutile o se – in determinate condizioni – possa anzi risultare dannosa.

Metodi. Sono stati ottenuti ed analizzati campioni da pazienti FC in corso di terapia con GSH, l'attività di GGT è stata misurata e correlata con parametri biochimici e clinici. Sono stati effettuati esperimenti *in vitro* su di una linea cellulare con mutazione del CFTR e un modello murino FC è stato messo a punto.

Risultati. L'analisi di ca. 190 campioni di escreato ha confermato livelli di GGT molto eterogenei. L'attività di GGT corrella con i livelli di elastasi neutrofilica e con i prodotti derivati dal catabolismo del GSH. Il trattamento con GSH riduce in modo significativo i livelli di alcune citochine infiammatorie (IL-8, TNF- α , IL-1 β) solo nei soggetti con regressione del processo infiammatorio. Un aumento dei livelli di GGT durante il trattamento con GSH si associa a più alti livelli di un marcitore di stress ossidativo (carbonili proteinici). Quest'ultimo effetto potrebbe essere mediato dalla GGT dell'escreato. Esperimenti *in vitro* hanno infatti confermato il potenziale ruolo della GGT nel promuovere reazioni pro-ossidanti, mentre gli esperimenti sinora condotti sul modello animale hanno consentito di valutare lo stato di attivazione del fattore di trascrizione NF- κ B. Ulteriori studi consentiranno di chiarire il ruolo esatto della GGT nell'infiammazione polmonare.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. I nostri dati dimostrano che l'attività di GGT dell'escreato corrella con l'infiltrato neutrofilico. Differenziare i pazienti sulla base di aumenti/diminuzioni dei livelli di attività di GGT potrebbe aiutare a discriminare soggetti con regressione della risposta infiammatoria - in cui il trattamento con GSH potrebbe dare effetti benefici - da quelli con esacerbazioni - in cui il GSH potrebbe anche produrre effetti nocivi.

68. In vitro study of potential pro-fibrotic effect of Everolimus in different human airway cell lines. Searching for new biomarkers to optimize MTOR-inhibitor immunosuppressive treatment of cystic fibrosis patients undergoing lung transplantation (*)

Tomei P¹, Masola V¹, Granata S¹, Chilosi M², Lupo A¹, Zaza G¹

¹Renal Unit, Department of Medicine, University of Verona,

²Department of Pathology and Diagnostics, Laboratory of Molecular Pathology, University-Hospital of Verona, Italy

(FFC#28/2014, Completed)



Gianluigi Zaza, titolare del progetto

Background. MTOR-inhibitors (*mTOR-I*), Everolimus (EVE) and Sirolimus, immunosuppressants broadly used in transplantation, may determine severe adverse events including pulmonary fibrosis.

Hypothesis and objectives. The pathogenic mechanism of *mTOR-I*-associated pulmonary toxicity is still unclear, but epithelial to mesenchymal transition (EMT) of bronchial/pulmonary cells may have a role.

Methods. Human type II pneumocyte-derived A549, normal (*Nuli-1*) and homozygous for the delta F508 mutation causing cystic fibrosis (*Cufi-1*) bronchial epithelial cell lines were treated with EVE or Tacrolimus at different concentration. RT-PCR and immunofluorescence were used to evaluate mRNA and protein levels of EMT markers (α -SMA, Vimentin, Fibronectin). Subsequently transcriptomic profile has been performed on *Nuli-1*, *Cufi-1*, primary bronchial epithelial cells (BE 63/3) and homozygous for the delta F508 mutation causing cystic fibrosis (BE 91/3) treated with EVE 5 nM and 200 nM.

Finally, in 13 EVE- and 13-Tacrolimus-treated patients we compared the rate of lung fibrosis, estimated by an arbitrary pulmonary fibrosis index score (PFIS).

Results. Biomolecular experiments demonstrated that high dose of EVE (100 nM) up-regulated EMT markers in all cell lines at both gene- and protein level with a significant AKT-phosphorylation. Transcriptomic analysis revealed that EVE (5 nM) caused up-regulation of 29 genes in *Nuli-1*, 10 genes in *Cufi-1*, 19 genes in BE 63/3 and 86 genes in BE 91/3. EVE (200 nM) caused up-regulation of 23 genes in *Nuli-1*, 13 genes in *Cufi-1*, 47 genes in BE 63/3 and 42 genes in BE 91/3. Interestingly this analysis confirmed the first part of the study revealing the upregulation of several EMT related genes (e.g., MMPs, COL12A1) only in cells exposed to high dose of EVE. In the *in vivo* part of the study, we found that the PFISs were significantly higher in EVE-group compared to Tacrolimus-group ($p=0.03$) and correlated with trough levels ($R^2=0.35$).

Spin-offs for research and clinical purposes. Our data revealed, for the first time, a dose-dependent EVE-induced EMT in airway cells. Additionally, they suggest that clinicians should employ, whether possible, low dosages of *mTOR-I*s evaluating periodically pulmonary function. Our genetic profile, in future, whether validated in patients, could be useful for clinicians to personalize *mTOR-I* treatment in solid organ transplant recipients minimizing lung toxicities.

Studio in vitro del potenziale ruolo profibrotico di Everolimus su diversi tipi di cellule polmonari e ricerca di nuovi biomarker utili per ottimizzare il trattamento immunosoppressivo con inibitori di mTOR in pazienti con fibrosi cistica sottoposti a trapianto di polmone

Ragioni dello studio. Gli inibitori di mTOR (*mTOR-I*), Everolimus (EVE) e Sirolimus, immunosoppressori ampiamente utilizzati nei trapianti di organi solidi, possono determinare gravi eventi avversi, tra cui la fibrosi polmonare.

Ipotesi e obiettivi. Il meccanismo patogenetico alla base della tossicità polmonare di questi farmaci non è ancora molto chiaro, ma la transizione epitelia-mesenchimale (EMT) delle cellule bronchiali/polmonari può avere un ruolo importante.

Metodi. Pneumociti di II tipo (A549) e linee cellulari di epitelio bronchiale normali (Nuli-1) e con mutazione in omozigosi del gene delta F508 della fibrosi cistica (Cufi-1) sono stati trattate con EVE e Tacrolimus (TAC) (un farmaco immunosoppressore appartenente alla famiglia delle Calcineurine) a diverse concentrazioni. Le metodiche di Real-Time PCR e l'immunofluorescenza sono state utilizzate per valutare i livelli di mRNA e proteici dei principali marker di EMT (α -SMA, Vimentina, Fibronectina). In aggiunta è stata effettuata una analisi trascrittonica su Nuli-1, Cufi-1 e cellule primarie epiteliali bronchiali wild-type (BE63/3) e omozigoti per la mutazione delta F508, trattate con EVE 5 nM e 200 nM. Successivamente, in 13 pazienti nefro-trapiantati trattati con TAC e 13 trattati con EVE è stato stimato il tasso di fibrosi polmonare attraverso l'utilizzo di uno "Score" clinico arbitrario (PFIS).

Risultati. Gli esperimenti biomolecolari, dimostravano che alte dosi di EVE (100 nM) erano in grado di iper-esprimere i marcatori di EMT in tutte le linee cellulari sia a livello genetico che proteico con un significativo innalzamento della fosforilazione della proteina AKT. L'analisi trascrittonica sulle diverse cellule trattate con EVE 5 nM ha rivelato la iper-espressione di 29 geni in Nuli-1, 10 geni in Cufi-1, 19 geni in BE 63/3 e 86 geni in BE 91/3. Allo stesso tempo il trattamento con EVE 200 nM causava la iper-espressione di 23 geni in Nuli-1, 13 geni in Cufi-1, 47 geni in BE63/3 and 42 geni in BE91/3. È interessante notare che questi risultati confermavano i dati ottenuti nella prima parte dello studio poiché solo le alte dosi di EVE causavano la up-regolazione di geni associati all'EMT (es. MMPs, COL12A1). Nella parte in vivo dello studio, abbiamo riscontrato livelli significativamente più alti di PFIS nel gruppo EVE rispetto al TAC ($p=0.03$). I livelli di fibrosi erano, poi, significativamente correlati alle concentrazioni ematiche di TAC ($R^2=0.35$).

Possibili ricadute per ricerca e clinica. Pertanto, i nostri dati dimostravano, per la prima volta, che l'EVE era in grado di indurre EMT delle cellule delle vie aeree e sottolineavano la necessità da parte dei medici coinvolti nel follow-up dei pazienti trapiantati di utilizzare, se possibile, bassi dosaggi di questa categoria farmacologica (mTOR-I) e di valutare periodicamente la funzionalità polmonare. Il profilo trascrittomico, se validato su pazienti, potrebbe essere utile in futuro, per i clinici allo scopo di personalizzare la terapia con mTOR-I in pazienti portatori di trapianto, minimizzando il rischio di tossicità polmonare.

69. An analysis of current guidelines in cystic fibrosis (*)

Braggion C¹, Terlizzi V¹, Galici V¹, Neri A¹, Dinnella G², Guerzoni C², Turrin V², Adami A², Buzzetti R³, Baldo E²

¹Centro Regionale FC Toscana, Ospedale dei Bambini A. Meyer, Firenze. ²APPS-Trento, Centro Provinciale Supporto FC Ospedale Rovereto. ³Italian CF Research Foundation (FFC#25/2015, Completed)

Background. A clinical guideline (LG) is a document with the aim of guiding decisions and criteria regarding diagnosis, management, and treatment in specific areas of healthcare; also in the Cystic Fibrosis (CF) world, scientific societies and organizations publish LG to give recommendations; since guidelines may have both methodological problems and conflict of interest our strategy is needed to choose which guidelines should be implemented.

Aims. Evaluate the reliability of every single guideline pro-



Cesare Braggion, titolare del progetto

duced within the CF; identify the accurate documents and to implement its knowledge among the healthcare profession; produce a reasoned synopsis of the existing recommendations.

Methods. Search and selection of the LG published in CF. Production of a database of selected LG. Methodological analysis of LG (3 independent valuers), using AGREE II instrument; AGREE II is a 23-item tool organized within 6 quality-related domains (aims and target group; stakeholder involvement; rigour of development, clarity of presentation, editorial independence). Summary of the main recommendations from LG selected having a high AGREE score. Production of synoptic tables including clinically significant reccomandations with the aim to compare the different LG recommendations.

Results. 110 documents were considered eligible for the analysis (58 and 52 consensus guidelines), then reduced to 40 (LG produced in the last 10 years, covering the most relevant clinical topics in CF field). A deep analysis of the data results in poor quality of available documents, especially the consensus documents that don't respond to some methodological criteria indicated by Agree II (range of mean score: 26,4%-74,4%). Similarly, LG lack especially in three areas: rigor of development (mean score 47,2%), stakeholder involvement (mean score 52,4%), and applicability (mean score 28%). The latter represents a significant future investment framework, considered the monitoring deficiencies found by CF Registers. We selected 25 documents of relevant questions for practice (pulmonary disease and respiratory therapy), from which we have extracted 788 recommendations.

Spin off for research. Our project graded LG in high, medium, low level of quality; we founded a lot of documents with low level of quality and discrepancies between recommendations; we set up a synoptic table of evidence-based recommendation from valid LG to facilitate the implementation in daily practice.

Analisi delle linee guida in FC. Dalla qualità metodologica ai contenuti

Ragioni dello studio. Le linee guida (LG) propongono raccomandazioni di comportamento clinico, prodotte con metodi ben definiti. La loro qualità risulta fondamentale per prendere corrette decisioni per l'assistenza dei pazienti.

Ipotesi e obiettivi. Conoscere l'affidabilità delle LG prodotte in ambito di Fibrosi Cistica (FC), identificare i documenti più validi e implementarne la conoscenza tra gli operatori sanitari, produrre una lista ragionata delle raccomandazioni per gli ambiti più rilevanti.

Metodi. Il progetto si articola nelle seguenti fasi: ricerca delle LG pubblicate in ambito FC; selezione delle LG da includere; costruzione di un database; analisi metodologica, attraverso lo strumento AGREE II, di ogni LG inclusa (3 valutatori indipendenti). AGREE II è uno strumento di valutazione della qualità delle LG, che include una lista di 23 aspetti, riguardanti 6 principali aree di valutazione (obiettivi e ambiti di applicazione; coinvolgimento delle parti in causa; rigore

metodologico; chiarezza espositiva; applicabilità; indipendenza editoriale). Sintesi delle principali raccomandazioni da LG selezionate aventi un elevato punteggio AGREE; costruzione di tabelle per comparare le più rilevanti raccomandazioni di differenti LG.

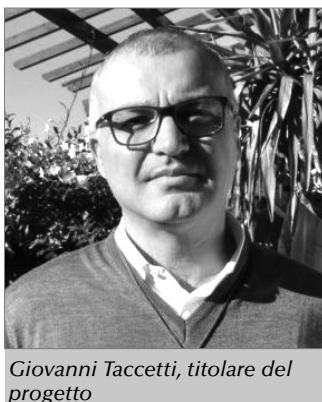
Risultati. Sono stati considerati eleggibili 110 documenti (58 consensus e 52 guidelines), successivamente ridotti a 40, considerando i lavori prodotti negli ultimi 10 anni e riguardanti gli argomenti clinici più rilevanti in ambito FC. Dall'analisi dei dati risulta una scarsa qualità dei documenti disponibili, in particolare per quanto riguarda i documenti consensus,,che non rispondono ad alcuni criteri metodologici indicate da AGREE II (range dei punteggi medi: 26,4%-74,4%). Allo stesso modo le LG risultano carenti soprattutto in 3 ambiti: metodologia di sviluppo (punteggio medio: 47,2%), coinvolgimento (punteggio medio: 52,4%) e applicabilità (punteggio medio 28,0%). Quest'ultimo rappresenta un ambito di investimento futuro rilevante, considerati le carenze di monitoraggio rilevate dai Registri di patologia. Sono stati, infine, selezionati 25 documenti su due ambiti (malattia polmonare e fisioterapia respiratoria), dai quali sono state estratte 788 raccomandazioni.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. Il nostro progetto identifica le maggiori criticità e discordanze in ambito FC, le LG metodologicamente più valide e fornisce una ragionata sinossi delle raccomandazioni da applicare nella pratica clinica quotidiana.

70. *Pseudomonas aeruginosa eradication in patients with cystic fibrosis: a randomised multicentre study comparing classic treatment protocols with classic treatment together with antibiotic treatment of upper airways*

Taccetti G

Dipartimento di Medicina Pediatrica, Centro fibrosi cistica - Università di Firenze, Ospedale dei Bambini A. Meyer, Firenze (FFC#30/2015, In progress)



Giovanni Taccetti, titolare del progetto

Background. Chronic pulmonary infection due to *P. aeruginosa* is a negative prognostic factor for cystic fibrosis (CF) patients. The eradication of *P. aeruginosa* in CF patients has been one of the major areas of treatment success in the last 10 years. Early antibiotic treatment can eliminate the bacteria in 70% of cases and delay the development of chronic infection. Currently there is no gold standard treatment protocol.

Hypothesis and objectives. It has been demonstrated that patients can be reinfected by *P. aeruginosa*. Recent data indicate that the paranasal sinuses are an initial site of the infection and serve as a reservoir for subsequent reinfection. It has also been hypothesized that *P. aeruginosa* undergoes genetic adaptation in the respiratory tract of CF patients. The main objective of this study is to compare the efficacy of two types

of treatment: the classic eradication protocol used until now, versus the classic protocol together with nasal lavage with colistin. The role of the paranasal sinuses in the development of *P. aeruginosa* infection will be studied microbiologically.

Essential methods. CF patients will be randomized to receive either the classic or the experimental treatment, which will last 4 weeks in both groups. Eradication success will be defined as 3 negative, successive *P. aeruginosa* cultures within 6 months. Possible differences in the time required before

P. aeruginosa recolonization will also be studied. The *P. aeruginosa* strains isolated both from the sinuses and the lower respiratory tract of the patients will be investigated microbiologically to evaluate genetic mutations.

Preliminary results. The study was registered (EudraCT2015-003881-96) and obtained a positive opinion from the Ethics Committee of the Meyer Hospital and AIFA (18/5/2016). The study was then submitted to the Ethics Committees of the respective centres partners. Under current rules, insurance has been taken out for patients participating in the study (Provision 279 3/8/2016). A computerised list for patients' randomization and a service for the centralization of clinical and microbiological data have been arranged. The CF Coordinating Centre has started patient enrolment.

Expected results and their significance. The combination of classic eradication therapy together with nasal lavage could prove to be a simple and useful method for further delaying the reappearance of *P. aeruginosa* in the lungs of CF patients. This study will help to focus on the role of the sinuses and reveal the possible utility of a different approach to *P. aeruginosa* infection in CF patients.

Studio randomizzato multicentrico sull'eradicazione di *Pseudomonas aeruginosa* in pazienti con fibrosi cistica: confronto tra il trattamento eradicante classico e il trattamento classico associato con la terapia delle alte vie respiratorie

Ragioni dello studio. L'infezione polmonare cronica da *P. aeruginosa* è un fattore prognostico negativo in Fibrosi Cistica (FC). L'eradicazione di *P. aeruginosa* è stata nell'ultimo decennio uno dei maggiori progressi nella terapia della FC. Il trattamento antibiotico precoce elimina il germe dalle vie aeree nel 70% dei casi e ritarda notevolmente lo sviluppo dell'infezione cronica. Attualmente non esiste un protocollo di trattamento eradicante migliore degli altri.

Ipotesi e obiettivo. Dopo il trattamento eradicante molti pazienti possono ripresentare infezioni da *P. aeruginosa*. I seni paranasali possono essere la sede iniziale dell'infezione e avere un ruolo anche nei successivi episodi infettivi a livello polmonare. È ipotizzabile che a livello dei seni si verifichi un progressivo adattamento genetico di *P. aeruginosa* alle vie aeree del paziente FC. Questo studio multicentrico ha come obiettivo quello di comparare l'efficacia di due tipi di trattamento per eliminare *P. aeruginosa* dalle vie aeree nelle fasi iniziali dell'infezione. Verrà inoltre studiato dal punto di vista microbiologico il ruolo dei seni paranasali nello sviluppo dell'infezione da *P. aeruginosa*.

Metodi essenziali. I pazienti verranno assegnati, da un software informatico apposito, ad uno dei due schemi di trattamento (classico o sperimentale) in modo casuale. Al gruppo classico verranno prescritti gli schemi e i farmaci finora usati nei centri, al gruppo sperimentale verranno prescritti gli stessi farmaci con l'aggiunta di lavaggi nasali con colistina in soluzione fisiologica. Il trattamento durerà 4 settimane in entrambi i gruppi. L'eradicazione viene definita come 3 risultati colturali negativi successivi nell'arco di 6 mesi. Verranno inoltre precise eventuali differenze nel tempo di reinfezione da *P. aeruginosa*.

Risultati preliminari. Lo studio è stato registrato (EudraCT 2015-003881-96) e ha ottenuto parere positivo dal

Comitato Etico dell’Azienda Ospedaliera Meyer e da AIFA (18/5/2016.). Lo studio è stato quindi presentato ai Comitati Etici dei rispettivi Centri partners. In base alle norme vigenti è stata stipulata polizza assicurativa per i pazienti che parteciperanno allo studio (Disposizione 279 3/8/2016). È stato disposto un apposito software per la randomizzazione dei pazienti e un servizio per la centralizzazione dei dati clinici e microbiologici. Il Centro FC coordinatore ha iniziato l’arruolamento dei pazienti.

Risultati attesi e loro significato. Lo studio valuterà se l’associazione fra trattamento classico e lavaggio nasale possa eradicare *P.aeruginosa* in modo più efficace rispetto al solo trattamento eradicante classico. Il laboratorio di microbiologia inoltre, con i campioni raccolti durante le visite, studierà il ruolo dei seni paranasali nello sviluppo dell’infezione da *P.aeruginosa*.

71. Intra-individual biological variation in sweat chloride concentrations (*)

Cirilli N¹, Raia V², De Gregorio F², Di Pietro M², Tosco A², Salvadori L², Sepe A², Buzzetti R³, Minicuci N⁴, Rocco I⁴

¹Cystic Fibrosis Referral Care Center- Mother-Child Department- United Hospitals-Salesi Children’s Hospital, Ancona, Italy, ²Regional Cystic Fibrosis Care Unit, Department of Translational Medical Sciences, University “Federico II”, Naples, Italy, ³Epidemiologist, Bergamo, ⁴Neuroscience Institute, CNR, Padova (FFC#27/2015, Completed)



Natalia Cirilli, titolare del progetto

Background. The sweat test (ST) remains the main test for Cystic fibrosis (CF) diagnosis and it is now also used to evaluate the function of the CFTR protein in basal conditions and under the influence of CFTR modulators. However it is not yet well-defined the biological variability of the test, both among different individuals (inter-individual) and within the same individual at different times and under different conditions (intra-individual).

Hypothesis and objectives. The project aims to study intra-individual sweat chloride (Cl) biological variability both in subjects with CF and in healthy people and to assess its possible correlation to different variables (diet, seasons, menstrual cycle).

Methods. 35 out of 36 selected subjects (6 to 18 years) have been enrolled in a multicentre prospective clinical study and divided into 3 cohorts: patients with CF, patients with CFTR-Related Disorder (CFTR-RD), healthy volunteers. Each subject have to perform 8 ST at different times: at least 2 tests for each period, autumn-winter (A/W) and spring-summer (S/S), on hyposodic diet and on free diet (for CF patients all tests on free diet) and, in menstruating females, at least 1 test during both mid-cycle and pre-menstrual phase.

The statistical analysis of the collected data will clarify the intra-individual variability for each group.

Results. At the end of summer only 5/35 patients have completed all tests. From an interim descriptive analysis of collected data we can observe: in healthy subjects the intraindividual variability seems to be not related to any analized factor; no patient with CF have Cl values <60mEq/l at any time; 2 patients with CFTR-RD and 1 healthy male have at least 1 value >60 mEq/l; 9/11 CF patients have at least one Cl value >150 mEq/l; hyposodic diet seems to be related to slight lower value of Cl in patients with CFTR-RD; only in CF patients Cl values in the period A/W are lower than values collected in S/S; in CF patients mid-cycle tests are associated to higher Cl values.

Spin-off for research & clinical purposes. These preliminary results suggest the following considerations: 1. Considering the high frequency of Cl values >150 mEq, are they really not physiological as reported in international guidelines? 2. May the variability of Cl observed on hyposodic diet in CFTR-RD patients reflect CFTR dysfunction suggesting possible variations also in CF patients not evaluated in this study for ethical reasons? 3. May the variability of Cl in seasons in CF reflect the hydration status of patients? 4. May the observed variations during the menstrual cycle in CF patients reflect changes in CFTR function induced by hormones and related inflammation?

Studio della variabilità biologica intra-individuale del cloro nel sudore

Ragioni dello studio. Il test del sudore rimane il gold standard per la diagnosi di fibrosi cistica (FC) ed oggi è usato anche per valutare la funzione della proteina CFTR, in condizioni basale e sotto effetto dei nuovi farmaci modulatori della CFTR. Tuttavia non è stata ancora ben definita la variabilità biologica del test, sia fra individui diversi (inter-individuale) che nello stesso individuo in tempi e condizioni diverse (intra-individuale).

Ipotesi ed Obiettivi. Il progetto ha l’obiettivo di studiare la variabilità biologica (cioè indipendente da variabili di tipo tecnico legate alla raccolta o all’analisi del sudore) intra-individuale del cloro (Cl) nel sudore e stabilire se è correlata con fattori quali la dieta, la stagione e il ciclo mestruale.

Metodi. Sono stati arruolati 35 soggetti (6 e 18 anni) e suddivisi in 3 gruppi: pazienti con FC, pazienti con FC atipica (CFTR-RD), volontari sani. Ogni soggetto sta eseguendo 8 test del sudore in tempi diversi: nelle diverse stagioni, a dieta libera e a basso contenuto di sale (tranne i soggetti con FC) e, nelle femmine mestruate, prima e a metà del ciclo mestruale. L’analisi statistica dei dati raccolti potrà chiarire la variabilità intra-individuale per ogni gruppo.

Risultati. Alla fine dell'estate solo 5/35 hanno completato i test previsti. Da un'analisi parziale e descrittiva dei dati emerge: 1) I valori di Cl nei soggetti sani non sembrano essere influenzati dalle variabili considerate. 2) Nei pazienti con FC non si osservano mai valori <60 meq/l, mentre si sono osservati valori sopra i 60 in due pazienti con CFTR-RD e in un soggetto sano. 3) In 9/11 pazienti con FC almeno un valore di Cl è risultato >150 mEq/l. 4) La dieta iposodica pare associarsi a valori più bassi negli atipici. 5) Nei pazienti con FC i test effettuati nella stagione autunno/inverno presentano valori di Cl più bassi rispetto a quelli della primavera/estate. 6) Nelle pazienti con FC i valori di Cl in corso di ciclo mestruale appaiono più elevati che nella fase premestruale.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. Questi risultati preliminari sollevano i seguenti quesiti: 1) Valori di Cl>150 mEq/l sono veramente da mettere in discussione come attualmente definito dalle Linee guida? 2) La variazione osservata in caso di dieta iposodica negli atipici potrebbe riflettere la disfunzione della proteina CFTR e quindi variazioni maggiori anche in caso di FC non valutate per motivi etici? 3) Le variazioni del Cl nelle diverse stagioni nei pazienti con FC potrebbero essere correlate allo stato di idratazione? 4) Le variazioni osservate durante il ciclo mestruale nelle pazienti con FC potrebbero riflettere le variazioni della funzione della CFTR indotte dagli ormoni e dall’infiammazione ad essi correlata?

72. Transmissibility and clinical significance of *Mycobacterium abscessus* in patients with cystic fibrosis (*)

Tortoli E¹, Cariani L², Di Serio C³, Niemann S⁴

¹Unità Batteri Patogeni Emergenti, Divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie Infettive, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano, ²Centro Lombardo FC, Fondazione IRCCS Ca' Granda, Ospedale Maggiore Policlinico, Milano, ³CVSSB, Università Vita-Salute San Raffaele, Milano, ⁴Molecular Mycobacteriology, Research Center Borstel (FFC#27/2014, Completed)



Enrico Tortoli, titolare del progetto

Background. *M. abscessus* (MA) is a species frequently isolated from cystic fibrosis (CF) patients. Three Subspecies (subsp.) of MA exist and their identification is crucial for epidemiology and optimal patient's management. Although the environment is considered the source of MA infections, its transmission between CF patients has been hypothesized.

Objectives. We aimed to investigate a large collection of MA isolates obtained from CF patients to increase present knowledge about the prevalence of the 3 subsp., their antimicrobial susceptibility, the presence of MA genotypes characterized by increased virulence and responsible for severe clinical manifestations, the transmissibility between patients of the infection. **Methods.** Three hundred six MA isolated from 62 FC patients of 4 Italian centers have been identified at level of subsp. by genetic sequencing of *rpoB* gene. *Erm*, 16S rRNA and 23S rRNA genes have been sequenced to detect mutations responsible for resistance to macrolides and amikacin. For each patient, the isolates belonging to the same subsp. have been genotyped, determining their VNTR profile and/or resorting to whole genome sequencing, to discriminate chronic infections from subsequent infections by different strains. The susceptibility to 9 antimicrobials by MIC determination in liquid medium has been evaluated on 184 isolates. Clinical data from patients infected by MA have been collected and statistically analyzed.

Results. One hundred ninety nine isolates were identified as belonging to the subsp. *MA abscessus*; 41 as *MA massiliense* and 66 as *MA bolletii*. A single subsp. was invariably isolated from 58 patients while in 3 others were isolated, in different times, 2 different MA subsp. In the large majority of patients persistently infected by the same MA subsp. the VNTR genotype remained unchanged or differed for no more than a single locus. Whole genome sequencing revealed that in patients with persistent isolation of the same subspecies characterized by the same VNTR genotype, the same strain was invariably responsible for the infection. In contrast the isolates from different patients belonged to different strains, even when the same VNTR genotype was shared. WGS analysis revealed in nine strains shared by a couple of patients for which the patient to patient transmission cannot be excluded. The epidemiological investigation we will undertake will help to make clear this

hypothesis. The antimicrobial susceptibility testing confirmed that, with the exception of *MA massiliense*, all the strains were characterized by inducible resistance to macrolides.

Spin-off for research & clinical purposes. The confirmation, or the exclusion, of patient to patient transmission will heavily impact on cross-infections measures.

Trasmissibilità e significato clinico delle diverse sottospecie di *Mycobacterium abscessus* in pazienti con fibrosi cistica

Background. Le infezioni polmonari da *Mycobacterium abscessus* (MA), di cui esistono tre diverse sottospecie (subsp.), sono in continuo aumento nei pazienti con fibrosi cistica (FC). Dal momento che le 3 subsp. differiscono per la sensibilità agli antibiotici la loro identificazione è di fondamentale importanza. Si ritiene comunemente che le infezioni da MA vengono contratte dall'ambiente ma recentemente è stata ipotizzata anche la trasmissione fra pazienti.

Obiettivi. Abbiamo intrapreso uno studio allargato ad un ampio numero di ceppi di MA isolati da pazienti con FC per ricercare informazioni sulla prevalenza delle tre subsp., sulla loro sensibilità agli antibiotici, sull'eventuale esistenza di varianti genetiche di MA correlate alla gravità del quadro clinico, nonché a chiarire i dubbi relativi alla possibilità di trasmissione interumana dell'infezione.

Metodi. Sono stati presi in esame 306 isolati di MA provenienti da 62 pazienti facenti capo a 4 centri FC italiani. L'identificazione della sottospecie è stata ottenuta determinando lo sequenza del gene *rpoB*. I geni *erm*, 16S rRNA e 23S rRNA sono stati sequenziati per evidenziare eventuali mutazioni responsabili di resistenza ai macrolidi ed all'amikacina. Nell'ambito delle tre subsp. i ceppi ottenuti dai singoli pazienti sono stati sottoposti ad analisi genica (mediante VNTR e/o mediante sequenziamento dell'intero genoma) per differenziare le infezioni sostenute costantemente da uno stesso ceppo dalle reinfezioni da parte di ceppi indipendenti. La sensibilità a 9 antibiotici è stata saggia in vitro determinando, per ciascuno, la concentrazione più bassa capace di inibire la crescita di MA.

Risultati. Cento novantanove isolati sono risultati appartenere alla subsp. *MA abscessus*, 41 alla subsp. *MA massiliense* e 66 alla subsp. *MA bolletii*. Da 58 pazienti è stata isolata sempre la stessa subsp. mentre nei 3 rimanenti si sono alternate, nel tempo due subsp. diverse. Nei pazienti cronicamente infettati dalla stessa subsp. i ceppi isolati sono risultati appartenere alla stessa variante VNTR. Il sequenziamento dell'intero genoma ha permesso di dimostrare che in ciascun paziente con più di un isolamento appartenente alla stessa subsp. il ceppo infettante rimaneva invariato nel tempo. Al contrario, in pazienti diversi, le infezioni sono sempre risultate sostenute da ceppi che, anche quando appartenevano alla stessa variante VNTR, erano diversi fra di loro. Il sequenziamento dell'intero genoma ha messo in evidenza la possibile trasmissione di ceppi fra pazienti. L'indagine epidemiologica sarà decisiva per la conferma o l'esclusione di tale ipotesi. La sensibilità agli antibiotici ha dimostrato che, con l'eccezione degli isolati di MA subsp. *massiliense*, tutti i ceppi erano provvisti di resistenza inducibile ad azitromicina e claritromicina.

Ricadute per la ricerca e la clinica. La conferma, o l'esclusione di episodi di trasmissione da paziente a paziente avrà importanti ricadute per quanto riguarda l'adozione di misure di prevenzione.

(*) Abstract in press on Journal of PostDoctoral Research (www.postdocjournal.com)

APPENDICES

Appendix 1

Publications and congress communications from the studies funded by Italian CF Research Foundation 2002-2016

Pubblicazioni e comunicazioni congressuali dagli studi finanziati dalla Fondazione Ricerca FC dal 2002 al 2016

1. CFTR PATHOPHYSIOLOGY AND THERAPY OF THE BASIC DEFECT **Fisiopatologia CFTR e terapie del difetto di base**

- FFC Project#1/2002 **"Mini-chromosomes: a new approach for cystic fibrosis gene therapy"**

Fiorentina Ascenzioni (Dipart. Biologia cellulare e dello sviluppo - Univ. La Sapienza Roma), Massimo Conese (Ist. per il Trattamento speriment. della FC - Osp. San Raffaele - Milano), Olga Zegarra (Lab. Gen. Molec. - Ist. Gaslini - Genova)

Publications

- Auriche C. et al. "Functional human CFTR produced by a stable minichromosome" EMBO Reports 2002; vol. 3, no. 9, pp. 862-868

- FFC Project#2/2002 **"Evaluation of efficiency efficacy and safety of CFTR-gene delivery mediated by lentivirus vectors in model systems of cystic fibrosis airway epithelium"**

Massimo Conese (Ist. per il Trattamento Speriment. della FC - Osp. San Raffaele - Milano)

Publications

- Copreni E. et al. "Lentivirus-mediated gene transfer to the respiratory epithelium: a promising approach to gene therapy of cystic fibrosis" Gene Therapy (2004) 11, S67-S75
- Carrabino S. et al. "Serum albumin enhances polyethylenimine-mediated gene delivery to human respiratory epithelial cells" The Journal of Gene Medicine 2005; 7: 1555-1564

Abstracts

- Copreni E. et al. "Pseudomonas aeruginosa infection of airway epithelium in a human fetal respiratory xenograft model in view of lentiviral gene therapy of CF lung disease" Journal of Cystic Fibrosis 2 (2003) S19-S23 - 26th Congress European Cystic Fibrosis Society, Belfast 4-7 June 2003
- Copreni E. et al. "Biosafety of a third generation lentiviral vector for gene transfer to the airway epithelium" NACFC, 2005
- Copreni E. et al. "Gene transfer to the airway epithelium mediated by a third generation HIV-1 based vector: efficiency and role of heparin sulphate" American Society of Gene Therapy, 8th Annual Meeting June 1-5 2005
- Copreni E. et al. "Study of clearance and internalization of Pseudomonas Aeruginosa in a human fetal respiratory xenograft model" Pediatric Pulmonology Suppl. 25, 2003. 17th Annual North American Cystic Fibrosis Conference - Anaheim, 16-19 October 2003
- Copreni E. et al. "Lentivirus-mediated gene transfer to the respiratory epithelium in vitro and in vivo in the absence of preconditioning of the airways" 2nd European Conference & Practical Course, February 1-14th, 2004 - Bellaterra, Spain
- Copreni E. et al. "Gene transfer to the airway epithelium by HIV-based vectors" ECFS Conference, Tomar, Portugal 30 April - 3 May 2004
- Copreni E. et al. "Optimisation of gene transfer to the respiratory epithelium in vitro and in vivo by a last generation lentiviral vector" 3rd European Conference & Practical Course 14 - 26 June 2004, Genopole-Evry, France
- Copreni E. et al. "Gene transfer to the airway epithelium mediated by last generation lentiviral vectors does not require preconditioning of the epithelial tight junctions" Pediatric Pulmonology Suppl. 27 - The 18th Annual North American CF Conference; America's Center, St. Louis, Missouri, Oct. 14-17 2004
- Copreni E. et al. "Trasferimento genico in modelli in vitro e pre-clinici di epitelio respiratorio mediante vettori virali e non virali" I incontro dei ricercatori di base della fibrosi cistica, Roma 1-2 luglio 2004
- Copreni E. et al. "Trasferimento genico mediato da un vettore lentivirale in modelli di epitelio respiratorio in vitro e in vivo: efficienza e ruolo dell'eparansolfato" X Congresso Nazionale di Fibrosi Cistica - Palermo, 27 - 30 ottobre 2004.
- Copreni E. et al. "Valutazione dell'efficienza, efficacia e sicurezza di vettori lentivirali nel trasferimento del gene CFTR in sistemi modello

di epitelio respiratorio con fibrosi cistica" I Convention d'Autunno dei Ricercatori Italiani per la fibrosi cistica - 14-15 novembre 2003, Verona

- Copreni E. et al. "Efficiency, efficacy and safety of Lentivirus vectors in CFTR gene transfer in model systems of airway epithelia with cystic fibrosis" II Convention d'Autunno dei Ricercatori Italiani per la fibrosi cistica - 19-20 novembre 2004, Verona

- FFC Project#1/2003 **"CFTR regulation by protein-protein interactions"**

Valeria Casavola (Dipart. Fisiologia Gen. ed Amb. - Univ. Bari), Manuela Zaccolo (Ist. Veneto Med. Molecolare, Padova)

Publications

- Abrahamsen H. et al. "TCR - and CD28 Mediated Recruitment of Phosphodiesterase 4 to Lipid Rafts Potentiates T Cell Receptor Signaling" J Immunol. 2004 Oct 15;173(8):4847-58
- Zaccolo M. et al. "Use of Chimeric Fluorescent Proteins and Fluorescence Resonance Energy Transfer to Monitor Cellular Responses" Circulation Research 2004;94:866-873
- Mongillo M. et al. "Fluorescence Resonance Energy Transfer-Based Analysis of cAMP Dynamics in Live Neonatal Rat Cardiac Myocytes Reveals Distinct Functions of Compartmentalized Phosphodiesterases" Circulation Research 2004; 95:67-75
- Guerra L. et al. "Stimulation of Xenopus P2Y1 receptor activates CFTR in A6 cells" Eur J. Physiol. (2004) 449: 66-75
- Cardone R. A. et al. "Protein kinase A gating of a pseudopodial-located rhoA/ROCK/p38/NHE1 signal module regulates invasion in breast cancer cell lines" Molecular Biology of the Cell Vol. 16, 3117-3127, July 2005

Abstracts

- Fanelli T. et al. "CFTR regulation of ion transporters by protein - protein interactions" Gordon Conference Le Diablerets 3-8 ottobre 2004
- Guerra L. et al. "Ruolo dei domini PDZ di entrambe le isoforme di NHERF nella regolazione del CFTR" X Congresso Nazionale di Fibrosi Cistica della Società Italiana di Pediatria Palermo, 27-30 ottobre 2004;
- Favia M. et al. "CFTR regulation of ion transporters by protein - protein interactions" The American Society fro Cell Biology, 44th Annual Meeting - Washington 4-8 December 2004
- Riccardi S. M. et al. "Role of NHERF1 in rescuing of F508del-CFTR activity". 2005 - European CF Conference - Evora, Portugal 14-17 April 2005;

- FFC Project#2/2003 **"Activators of the CFTR ionic transport: identification and molecular modelling of the binding sites"**

Oscar Moran, (Ist. Biofisica - CNR - Genova), Olga Zegarra, (Lab. Gen. Molec. - Ist. Gaslini - Genova), Vincenzo Martorana, (Ist. Biofisica - CNR - Palermo)

Publications

- Galietta L. et al. "Identification of CFTR activators and inhibitors: chance or design?" Current opinion in Pharmacology, vol. 4 issue 5, October 2004, 497-503
- Moran O. et al. "Binding site of activators of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in the nucleotide binding domains" CMLS Cellular and Molecular Life Sciences 62 (2005) 446-460;
- Moran O. et al. "A quantitative description of the activation and inhibition of CFTR by potentiatotors: Genistein" FEBS Letters 579 (2005) 3979-3983;

Abstracts

- Moran O. et al. "Molecular model of the nucleotide binding do-

- mains of the CFTR: cystic fibrosis correlated mutations" Paediatric Pulmonology, The 17th Annual North American CF Conference, Anaheim, California 16-19 October 2003
- Moran O. et al. "Searching for the CFTR- Openers binding site" 2004 - ECFS Conference New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis 30 April - 3 May 2004 Tomar Portugal
 - Moran O. et al. "Identification of the CFTR - openers binding site" S.I.B.P.A. 2004 XVII Congresso Nazionale della Società di Biofisica Pura ed Applicata Pisa 23 - 25 settembre 2004
 - Zegarra O. et al. "Identification of New Drugs for the Modulation of Chloride Transport in CF. Advance in the HTS Programme" 2004 - ECFS Conference New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis 30 April - 3 May 2004 Tomar Portugal
 - Moran O. et al. "A quantitative interpretation of the activation and inhibition of chloride currents by CFTR activators: genistein" The Physiology of Anion Transport. (Bristol, UK) 23-24 July 2005
 - Zegarra-Moran O. et al. "Pharmacologic activation of chloride transport in CF mutants" ECFS Conference. New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis (Evora, Portugal). 14-17 April, 2005
 - Zegarra-Moran O. et al. "Role of NBD mutations on the putative binding site of potentiatotors" Pediatr. Pulm. S29:71. 20th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Denver, 2-5 November 2006
 - Zegarra-Moran O. "CFTR potentiatotors and gating mutants" 29th European Cystic Fibrosis Conference (Copenhagen, Denmark), 15-18 June 2006
- FFC Project#3/2003 **"Screening of drugs approved for human use to identify novel pharmacological tools for Cystic Fibrosis"**
Luis JVL Galietta (Lab. Gen. Molec. - Ist. Gaslini - Genova), Mauro Mazzei (Dipart. Scienze Farmaceutiche - Univ. Genova), Massimo Conese (Ist. per il Trattamento Speriment. della FC - Osp. San Raffaele - Milano)
- Publications
- Pedemonte N. et al. "Anti-hypertensive 1,4 dihydropyridines as correctors of the CFTR channel gating defect caused by cystic fibrosis mutations" Molecular Pharmacology, Vol. 68, No. 6 (2005) pp. 1736-1746
 - Pedemonte N. et al. "Small-molecule correctors of defective ΔF508-CFTR cellular processing identified by high-throughput screening" The Journal of Clinical Investigation, Vol. 115, No. 9, Sept. 2005, pp. 2564-2571
- Abstracts
- Pedemonte N. et al. "Screening of a chemical library containing approved drugs and natural compounds to identify small molecules for the functional correction of CFTR mutants" 2004 North American Cystic Fibrosis Conference
 - Pedemonte N. et al. "Dual activity of aminoarylthiazoles on trafficking and gating defects caused by CF mutations" Pediatric pulmonology, Suppl. 31, 2008. 22nd Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, 22-25 October 2008, p. 311
- FFC Project#11/2003 **"Pathogenesis and treatment of Cystic Fibrosis-related liver disease"**
Mario Strazzabosco (Dipart. Med. Spec. e dei trapianti, U.O. Gastroenterologia, Osp. Riuniti - BG)
- Publications
- Spirli C. et al. "Glibenclamide Stimulates Fluid Secretion in Rodent Cholangiocytes through a CFTR-Independent Mechanism" Gastroenterology 2005; 129: 220-33
 - Strazzabosco M. et al. "Pathophysiology of Cholangiopathies" J. Clin Gastroenterology. Vol. 39, suppl. 2, April, 2005;
 - Fiorotto R. et al. "Ursodeoxycholic Acid Stimulates Cholangiocyte Fluid Secretion in Mice via CFTR-Dependent ATP Secretion" Gastroenterology (2007); 133: 1603-1613
 - Spirli C. et al. "Glibenclamide stimulates fluid secretion in rodent cholangiocytes through a cystic fibrosis transmembrane conductance regulator-independent mechanism" Gastroenterology. 2005 Jul;129(1):220-33
 - Strazzabosco M. et al. "Differentially expressed adenylyl cyclase isoforms mediate secretory functions in cholangiocyte subpopulation" Hepatology. 2009 Jul;50(1):244-52
- Abstracts
- Fiorotto R. et al. "Ursodeoxycholic acid stimulates fluid secretion in mice bile ducts trough a CFTR and PKCα/PKCε-dependent mechanism" Hepatology Vol. 40, No. 4, Suppl. 1, 2004
- FFC Project#13/2003 **"Biochemical and physiopathological aspects of plasma membrane of human bronchial epithelial cells expressing DF508 mutation before and after supplementation of methylated folic acid and B12 vitamin"**
Lisa Bambara (Medicina Interna B, Policlinico, Università di Verona)
- Publications
- Scambi C. et al. "Can 5-methyltetrahydrofolate modify the phospho-
- lipids fatty acid pattern in cystic fibrosis paediatric patients?" Journal of Cystic Fibrosis 2006 ; 5: 197-199
- FFC Project#2/2004 **"Chemoreceptor mechanism in CFTR expressing cells: molecular bases and role in control of secretion"**
Francesco Osculati (Dipart. Scienze Morfologico Biomediche - Università di Verona)
- Publications
- Merigo F. et al. "Secretory cells of the airway express molecules of the chemoreceptive cascade" Cell Tissue Res. 2007 327:231-247
- FFC Project#3/2004 **"Natural and synthetic amino acids as chemical chaperones to promote CFTR folding"**
B.M. Rotoli (Plesso Biotec. Integrato - Sez. Pat. Gen. e Clinica - Univ. Parma)
- Abstracts
- Rotoli B. M. et al. "Effects of taurine and other amino acids on the phenotype of ΔF508-CFTR cells" Experimental Biology 2006, April 1-5 - San Francisco, California
- FFC Project# 4/2004 **"Role of adenovirus receptors in the activation of mitogen activated protein kinase pathways and nuclear factor - kB in human airways epithelial cells"**
Anna Tamanini (Lab. Patologia Molecolare - Centro Fibrosi Cistica - Verona)
- Publications
- Tamanini A. et al. "Interaction of Adenovirus type 5 fiber with the Coxsackie Adenovirus receptor activates inflammatory response in human respiratory cells" Journal of Virology, 2006 Nov. Vol 80, No 22 p. 11241-11254
- Abstracts
- Tamanini A. et al. "Adenovirus Vector Receptor Interactions and Early Pro-Inflammatory Signalling" 2005 - European Cystic Fibrosis Conference - New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis - Evora, Portugal 14-17 April 2005
 - Tamanini A. et al. "Biosafety studies in CF gene transfer: role of vector-receptor interactions in pro-inflammatory signalling" Journal of Cystic Fibrosis 4 (2005) S26-S33; 28th European C.F. Conference, Hersonissos, Crete, Greece; 22-25 June 2005
- FFC Project#1/2005 **"Role of the scaffolding protein NHERF in the PKA-mediated regulation of CFTR sorting and activity"**
Valeria Casavola (Dipart. Fisiologia Gen. ed Amb. - Univ. Bari)
- Publications
- Guerra L. et al. "Na+/H⁺ Exchanger regulatory factor isoform 1 over expression modulates cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) expression and activity in human airway 16HBE14o - cells and rescues ΔF508 CFTR functional expression in Cystic Fibrosis cells" The Journal of Biological Chemistry vol. 280, No. 49, pp. 40925-40933, December 9, 2005
 - Favia M. et al. "NHE3 inhibits PKA-dependent functional expression of CFTR by NHERF2 PDZ interactions" Biochemical and Biophysical Research Communications 2006 Aug 25;347(2):452-9
 - Pantano S. et al. "Molecular basis of the allosteric mechanism of cAMP in the regulatory PKA subunit" FEBS Letters 579 (2005) 2679-2685;
 - Fanelli T. et all "Beta-estradiol rescues Delta-F508 CFTR functional expression in human cystic fibrosis airway CFBE 41 o-cells through the up-regulation of NHERF1". Biol Cell 2008 Jan 9
- Abstracts
- Fanelli T. et al. "β-estradiol rescues ΔF508-CFTR functional expression in CFBE41o-cells via NHERF1 up-regulation" Workshop Transporters 2006, Parma 6-9 September 2006
 - Guerra L et al. "Rescue of deltaF508 CFTR in CFBE41O-cells is dependent on actin cytoskeleton interaction with ezrin and NHERF1" European CF Conference, Belek, Turkey, 13-16 June 2007; J. of Cystic Fibrosis June 2007, vol. 6, suppl. 1:S7
 - Riccardi S.M. et al. "Rescue of deltaF508 CFTR in CFBE41O-cells is dependent on actin cytoskeleton interaction with ezrin and NHERF1" 58th National Congress of the Italian Physiological Society, Lecce 19-21 Sept. 2007; Acta Physiologica, vol. 191, suppl. 657
- FFC Project#2/2005 **"Macrolides and ion transport across CFTR"**
Emanuele Giordano (Ist. Naz. Ricerca Cardiovascolare (INRC) - Dipart. Biochimica)
- Abstracts
- Furini S. et al. "Macrolides antibiotics and ion transport across plasma membrane" XIII Congresso Nazionale della Società Italiana di Ricerche Cardiovascolari, Imola 21-23 settembre 2006
- FFC Project#4/2005 **"Novel generation lentiviral vectors: evaluation of inflammatory potential in human respiratory cells"**
Giulio Cabrini (Lab. Patologia Molecol. - Centro FC - OCM Verona)
- Abstracts
- Copreni E. et al. " Novel generation lentiviral vectors: evaluation of inflammatory potential in human respiratory epithelial cells" North

- American CF Conference 2006. Denver co, USA
- Bezzetti V. et al. "Selective modulation of *P. aeruginosa*-dependent induction of interleukin-8 by transcription factor decoy oligonucleotides in CF bronchial epithelial cells" The 20th North American CF Conference, Denver, Colorado, Nov. 2-5 2006
 - Lampronti I. et al. "Medicinal plant extracts inhibit the induction of pro-inflammatory genes in bronchial epithelial cells" The 21st Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Anaheim Convention Center, Anaheim, California, October 3-6 2007
 - Bezzetti V. et al. "Modulation of expression of genes involved in leukocyte chemotaxis by interfering with nuclear transcription factors" The 21st Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Anaheim Convention Center, Anaheim, California, October 3-6 2007
- FFC Project#5/2005 **"CFTR gene correction in human embryonic stem cells mediated by Small Fragment Homologous Replacement (SFHR)"**
- Federica Sanguinello (Dipart. Biopatologia e Diagnostica per imm. - Univ. Tor Vergata RM), Massimo De Felici (Dipart. Salute pubblica e Biologia cellulare - Univ. Tor Vergata RM), Lorenzo Guerra (Dipart. Fisiologia Gen. ed Amb. - Univ. Bari), Marco Lucarelli (Dipart. Biotecn. Cell. ed ematologia - Univ. La Sapienza Roma)
- Publications
- Sanguinello F. et al. "CFTR gene targeting in mouse embryonic stem cells mediated by small fragment homologous replacement (SFHR)" *FBS*, 2008, 13:2989-99
- Abstracts
- Filaretto A. et al. "DNA methylation enhances repair efficiency of small fragment homologous replacement (SFHR) gene targeting" 13th Italian Cystic Fibrosis Conference, Milan, 30 Nov. - 2 Dec. 2007, *J. Cyst Fibrosis* 2008; 7, suppl. 3: S15
- FFC Project#1/2006 **"Novel methods of intracellular delivery of ΔF508-CFTR correctors"**
- Marco Colombatti (Dipart. Patologia - Sez. Immunologia - Università di Verona), Giulio Cabrini (Lab. Patologia Molecol. - Centro FC - OCM Verona), Franco Dosio (Dipart. Scienza e Tecnologia del Farmaco - Univ. Torino)
- Publications
- Norez C. et al. "Chemical conjugation of ΔF508-CFTR corrector deoxyspergualin to transporter human serum albumin enhances its ability to rescue Cl⁻channel functions" *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2008 Aug, vol. 295, pp. L336-L347
- Abstracts
- Norez C. et al. "Chemical conjugation of ΔF508-CFTR corrector deoxyspergualin to transporter human serum albumin enhances its ability to rescue Cl⁻channel functions" Pediatric pulmonology, Suppl. 31, 2008. 22nd Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, 22-25 October 2008, p. 313
- FFC Project#2/2006 **"Homing of bone marrow-derived stem cells to the respiratory epithelium in a cystic fibrosis mouse model: Role of bioenergetic metabolism"**
- Massimo Conese (Ist. per il Trattamento speriment. della FC - Osp. San Raffaele - Milano), Nazareno Capitanio (Dipart. Scienze Biomediche - Univ. Foggia), Valeria Casavola (Dipart. Fisiologia Gen. ed Ambientale - Univ. Bari)
- Publications
- Trotta T. et al. "Stimulation of β2-adrenergic receptor increases CFTR function and decreases ATP levels in murine hematopoietic stem/progenitor cells" *J Cyst Fibros.* 2015 Jan;14(1):26-33
- Abstracts
- Conese M. et al. "Homing to the lung, mitochondrial content and CFTR expression in hematopoietic stem cells" 13th Italian Cystic Fibrosis Conference, Milan, 30 Nov. - 2 Dec. 2007, *J. Cyst Fibrosis* 2008; 7, suppl. 3: S16
- FFC Project#3/2006 **"Identification, optimization, and validation of potentiators and correctors for the pharmacotherapy of cystic fibrosis"**
- Luis JV Galieta (Lab. Gen. Molec. - Ist. Gaslini - Genova), Mauro Mazzei (Dipart. Scienze Farmaceutiche - Univ. Genova), Oscar Moran, (Istituto di Biofisica CNR - Genova)
- Publications
- Pedemonte N. et al. "Structure-Activity relationship of 1,4-Dihydropyridines as potentiators of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator chloride channel" *Molecular Pharmacology*, Vol. 72, N. 1, pp. 197-207
 - Caputo A. et al. "TMEM16A, A Membrane Protein Associated with Calcium-Dependent Chloride Channel Activity" *Science Express*, DOI: 10.1126/science.1163518, 4 Sept. 2008
 - Caputo A. et al. "Mutation-specific potency and efficacy of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator chloride channel potentiators" *J Pharmacol Exp Ther* (2009) 330: 783-91
 - Cateni F. et al. "Synthesis of 4-thiophen-2'-yl-1,4-dihydropyridines as potentiators of the CFTR chloride channel" *Bioorg Med Chem* (2009) 17: 7894-903
 - Ferrera L. et al. "Regulation of TMEM16A chloride channel properties by alternative splicing" *J Biol Chem* (2009) 284: 33360-33368
- FFC Project#4/2006, FFC#2/2008 **"Functional and structural basis of the molecular mechanism of CFTR potentiators: towards therapeutic feasible molecules"**
- Oscar Moran, (Istituto di Biofisica CNR - Genova), Olga Zegarra, Nazareno Dimasi (Lab. Gen. Molec. - Ist. Gaslini - Genova)
- Publications
- Zegarra Moran O. et al. "Functional analysis of mutations in the putative binding site for CFTR potentiators: interaction between activation and inhibition" *The Journal of Biological Chemistry* Vol. 282, No. 12 pp. 9098-9104, 2007
 - Ferrera L. et al. "Characterization of a 7,8-Benzoflavone Doublet Effect on CFTR Cl⁻ Channel Activity" *J. Membrane Biol.* (2007) DOI 10.1007/s00232-007-9066-4
 - Moran O. et al. "On the measurement of the functional properties of the CFTR" *Journal of Cystic Fibrosis*, 7 (2008) 483-494
 - Moran O. "Model of the cAMP activation of chloride transport by CFTR channel and the mechanism of potentiators" *J. Theor. Biol.* (2010) 262:73-79
 - Bisignano P. et al. "Molecular dynamics analysis of the wild type and ΔF508 mutant structures of the human CFTR-nucleotide binding domain 1" *Biochimie* (2010) 92:51-57.
 - Melani R. et al. "Analysis of ion transport in the airway epithelium using RNA interference" *Current Opinion in Molecular Therapeutics*, 11 (3): 282-291, 2009
 - Melani R. et al. "Modulation of Cystic Fibrosis transmembrane conductance regulator activity and genistein binding by cytosolic pH" *J of Biol Chem* (2010) Vol 285, 53:41591-6
 - Galeno L. et al. "Small-angle X-ray scattering study of the ATP modulation of the structural features of the nucleotide binding domains of the CFTR in solution" *Eur Biophys J*, 2011 Jul;40(7):811-24
- Abstracts
- Bisignano P. "Dinamica molecolare della CFTR: stabilità strutturale e termodinamica del primo dominio legante il nucleotide (NBD1)" Università degli Studi di Genova, Facoltà di Scienze Matematiche, Fisiche e Naturali, Corso di laurea specialistica in Biologia Cellulare e Molecolare, Tesi di laurea, a.a. 2008/2009
 - Galfè E. et al. "Biophysical characterisation of the interaction of recombinant nucleotide binding domains of the CFTR and potentiators" XIX Congresso Nazionale SIBPA, Roma, 17-20 settembre 2008
 - Ferrera L. et al. "Modulation of CFTR activity by interactions between the UCCF-029 potentiator and ATP analogues" The 22nd Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, October 23-25, 2008
 - Melani R. et al. "Interaction between CFTR and Genistein at different values of intracellular pH" 2009 ECFS Basic Science Conference, New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis, April 15-19, Tavira, Portugal
 - Martorana V. et al. "A molecular dynamics study of the CFTR nucleotide binding domains interaction" European Biophysics Journal, 7th EBBA European Biophysics Congress, Genova, July 11-15, 2009
 - Moran O., *moderators* "Pharmacology - how do correctors and potentiators work?" Special group discussion - IV, European CF Society, Tavira, Portugal, April 15-19, 2009
 - Moran O. et al., Identification of the binding site of CFTR potentiators. Presented at the 51st Annual Meeting of the Biophysical Society (Baltimore, U.S.A.). 3-7 March, 2007
 - Galfè E. et al., Biophysical characterisation of the interaction of recombinant nucleotide binding domains of the CFTR and potentiators, XIX Congresso Nazionale della Società Italiana di Biofisica Pura ed Applicata (Roma, Italy) 2008
 - Zegarra-Moran O. et al. "Pharmacologic activation of chloride transport in CF mutants" ECFS Conference. New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis (Regua, Douro, Portugal), 9-13 April, 2008
 - Moran O. et al., Pharmacology- how do correctors and potentiators work? New frontiers in basic science of cystic fibrosis. European Cystic Fibrosis Society Conference New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis (Tavira, Portugal), 15-19 April, 2009
 - Bisignano P. et al., Molecular dynamics of CFTR: Structural stability and thermodynamics of the first nucleotide binding domain (NBD1). BITS 2009 - Sixth Annual Meeting of the Italian Bioinformatics Society (Genova, Italy). 2009
 - Zegarra-Moran O. et al., Binding of potentiators to CFTR involves electrostatic interactions. *Pediatr. Pulm.* S33:234. 24th Annual North American Cystic Fibrosis Conference (Baltimore, U.S.A.). 21-23 October, 2010
 - Zegarra-Moran O., "CFTR potentiators: effects of pH and mutations".

- 33rd European Cystic Fibrosis Conference (Valencia, Spain). 16-19 June 2010
- Galeno L. et al., Structural features of the nucleotide binding domains of the CFTR in solution. XX Congresso Nazionale della Società Italiana di Biofisica Pura ed Applicata 2008 (Arcidosso, Italy)
 - Melani R. et al., CFTR Activity and Potentiators Binding Are Modulated By Cytosolic pH. ECFS Conference New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis.(Tirrenia, Italy). 30 March-2 April, 2011
 - FFC Project#2/2007 **“Cellular and molecular mechanisms of the actin cytoskeleton involvement in the NHERF1-dependent rescue of deltaF508 CFTR in human airway cells”**
Valeria Casavola (Dipart. Fisiologia Gen. ed Ambientale - Univ. Bari), Massimo Conese (Ist. per il Trattamento speriment. della FC - Osp. San Raffaele - Milano)
- Publications
- Fanelli T. et al. “ β -estradiol rescues Δ F508CFTR functional expression in human cystic fibrosis airway CFBE41o-cells through the up-regulation of NHERF1” Biol Cell. -2008 Jul;100(7):399-412
 - Favia M. et al. “NHERF1 overexpression-dependent increase of cytoskeleton organization is fundamental in the rescue of F508del-CFTR in human airway CFBE41o-cells” under revision for publication in Mol. Biol. Cell
 - Favia M. et al. “Na⁺/H⁺ exchanger regulatory factor 1 overexpression-dependent increase of cytoskeleton organization is fundamental in the rescue of F508del cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in human airway CFBE41o- Cells” Molec Biol of the Cell (2010), Vol. 21: 73-86
- Abstracts
- Favia M. et al “Ezrin phosphorylation and activation of RHOA play a role in the rescue of Δ F508 un CFBE41O-cells by NHERF1” XIII Congresso italiano della Fibrosi cistica, III Congresso nazionale SIFC, Milano, 30 novembre - 2 dicembre 2007
 - Favia M. et al. “Ezrin phosphorylation and activation of RhoA play a role in the NHERF1 overexpression-dependent rescue of F508del CFTR in human airway CFBE41o- cells” IV Congresso Nazionale della Società Italiana Fibrosi Cistica, Torino, 27-29 novembre 2008
 - Monterisi S. et al. “Ezrin and cAMP/PKA have different compartmentalization in CFBE41o- and 16HBE14o- cells” 31st European Cystic Fibrosis Conference, Prague 11-14 June 2008
 - Favia M. et al. “Rescue of F508del-CFTR in CFBE41o- cells is dependent on actin cytoskeleton interaction with Ezrin and NHERF1” ECFS Basic Science Conference, Regua, Douro, Portugal, 9-13 April 2008
 - FFC Project#3/2007 **“Pharmacological chaperones as correctors of Δ F508-CFTR”**
Mauro Mazzei (Dipart. Scienze Farmaceutiche - Univ. Genova), Melloni E. (Dip. Medicina Sper., Genova), Moro S. (Dip. Scienze Farmaceutiche Padova), Luis JV Galietta (Lab. Gen. Molec. - Ist. Gaslini - Genova)
- Publications
- Cateni F. et al. “Synthesis of 4-thiophen-2'-yl-1,4-dihydropyridines as potentiators of the CFTR chloride channel” Bioorganic & Medici. Chem. 17 (2009) 7894-7903
 - FFC Project#4/2007 **“Assessing the implication of protein kinase CK2 in cystic fibrosis pathogenesis”** Lorenzo A. Pinna (Dipart. Chimica Biologica - Università di Padova)
- Publications
- Pagano M. et al. “Modulation of protein kinase CK2 activity by fragments of CFTR encompassing F508 may reflect functional links with cystic fibrosis pathogenesis” Biochemistry 2008, 47, 7925-7936
 - Pagano M. et. al. “CFTR fragments with the F508 deletion exert a dual allosteric control over the master kinase CK2” Biochem. J. In press
 - Pagano M. et al. “La sorprendente diffusione del gene della fibrosi cistica: indizi per una nuova ipotesi” Atti dell’Istituto Veneto di Scienze, Lettere ed Arti, Tomo CLXVII (2008-2009) - Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali, Padova
 - Pagano M. et al. “Cystic fibrosis trans membrane regulator fragments with the Phe508 deletion exert a dual allostericcontrol over the master kinase CK2” Biochem. J. (2010) 426, 19-29
 - FFC Project#1/2009 **“Role of the scaffolding protein NHERF in the PKA-mediated regulation of CFTR sorting and activity”** Valeria Casavola (Dipart. Fisiologia Gen. ed Amb. - Univ. Bari)
- Publications
- Favia M et al “Na₊/H⁺ Exchanger Regulatory Factor 1 Overexpressiondependent Increase of Cytoskeleton Organization Is Fundamental in the Rescue of F508del Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator in Human AirwayCFBE41o- Cells”, Molecular Biology of the Cell January 1, 2010, Vol. 21, 73-86
 - Monterisi S. et al. “CFTR regulation in human airway epithelial cells requires integrity of the actin cytoskeleton and compartmentalized cAMP and PKA activity” J Cell Sci. 2012 Mar 1;125(Pt 5):1106-17
 - Castellani S. et al. “NHERF1 and CFTR restore tight junction organization and function in cystic fibrosis airway epithelial cells: role of ezrin and the RhoA/ROCK pathway” Lab Invest. 2012 Nov; 92(11):1527-40
- Abstracts
- Mancini MC. et al. “Phosphorylation of ezrin on threonine t567 plays a crucial role in the rescue of f508del cftr functional expression” Congresso SIFC Rimini, 18-21 novembre 2010
 - Monterisi S. et al., “CFTR regulation in human airway epithelial cells requires integrity of the actin cytoskeleton and compartmentalized cAMP and PKA activity” 8th ECFS Basic Science Conference, Tirrenia, Italy 30 March - 2 April 2011
 - FFC Project#2/2009 **“Development of small molecules to correct the defective chloride transport in cystic fibrosis”**
Luis JV Galietta (Lab. Gen. Molec. - Ist. Gaslini - Genova), Enrico Millo (Dip. Medicina Sperimentale - Lab. Biochimica - Univ di Genova), Mauro Mazzei (Dipart. Scienze Farmaceutiche - Univ. Genova)
- Publications
- Ferrera L et al “Regulation of TMEM16A chloride channel properties by alternative Splicing” J Biol Chem 284:33360-33368, 2009
 - Pedemonte N et al “Influence of cell background on pharmacological rescue of mutant CFTR” Am J Physiol Cell Physiol (2010) 298:C866-74
 - Budriesi R. et al. “Cystic fibrosis: a new target for 4-Imidazo[2,1-b]thiazole-1, 4-dihydropyridines” J Med Chem. 2011 Jun 9; 54(11): 3885-94
 - Pedemonte N. et al. “Dual activity of aminoarylthiazoles on the trafficking and gating defects of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) chloride channel caused by cystic fibrosis mutations” J Biol Chem. 2011 Apr 29;286(17):15215-26
 - Ferrera L. et al. “A minimal isoform of the TMEM16A protein associated with chloride channel activity” Biochim Biophys Acta 1808 (2011) 2214-2223
 - Sondo E. et al. “Rescue of the mutant CFTR chloride channel by pharmacological correctors and low temperature analyzed by gene expression profiling” Am J Physiol Cell Physiol. 2011 Oct;301(4):C872-85
 - Scudieri P. et al. “The anoctamin family: TMEM16A and TMEM16B as calcium-activated chloride channels” Exp Physiol. 2012 Feb;97(2):177-83.
 - Giampieri M. et al. “Asymmetric 4-Aryl-1,4-dihydropyridines potentiate mutant cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR)” ChemMedChem. 2012 Oct;7(10):1799-807
 - FFC Project#3/2009 **“Dissection by RNAi-mediated silencing of molecular mechanisms leading to f508del-cftr misprocessing”**
Nicoletta Pedemonte (Lab. Gen. Molec. - Ist. Gaslini - Genova)
- Publications
- Pedemonte N. et al. “Influence of cell background on pharmacological rescue of mutant CFTR” Am J Physiol Cell Physiol (2010) 298:C866-74
 - Pedemonte N. et al. “Dual activity of aminoarylthiazoles on the trafficking and gating defects of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) chloride channel caused by cystic fibrosis mutations” J Biol Chem. 2011 Apr 29;286(17):15215-26
- Abstracts
- Pedemonte N. et al “Dissection by rnai-mediated silencing of molecular mechanisms involved in DF508del-CFTR misprocessing” NACFC 2010, Baltimore, USA
 - Pedemonte N. et al. “Identification of new targets for Δ F508-CFTR rescue by genome-wide short interfering RNA screening” NACFC 2012, Orlando, USA
 - FFC Project#4/2009 **“Signaling potential of the DF508 CFTR mutation: a new paradigm to explain nonchannelopathy related aspects of cystic fibrosis”**
Lorenzo A. Pinna (Dipart. Chimica Biologica - Università di Padova)
- Publications
- Ruzzene M et al “Assessment of CK2 Constitutive Activity in Cancer Cells” Methods in Enzymology 2010; 484:495-514
 - Salvi M “Variable contribution of protein kinases to the generation of the human phosphoproteome: a global weblogo analysis” BioMol Concepts 2010 Aug; 1(2): 185-195
 - Salvi M et al “Motif analysis of phosphosites discloses a potential prominent role of the Golgi casein kinase (GCK) in the generation of human plasma phospho-proteome” J Proteome Res. 2010 Jun; 9(6): 3335-3338
 - Ruzzene M et al “Addiction to protein kinase CK2: a common denominator of diverse cancer cells?” Biochim Biophys Acta 2010 Mar; 1804(3): 499-504
 - Pagano MA et al “Cystic fibrosis transmembrane regulator fragments

with the Phe508 deletion exert a dual allosteric control over the master kinase CK2" *Biochem J.* 2010 Jan; 426(1):19-29

Abstracts

- Pagano MA et al "CK2 as a novel player in the modulation of phosphorylation-dependent events in cystic fibrosis" 6th International Conference on Protein Kinase CK2, Cologne (Germany), September 7-10, 2010

- FFC Project#6/2009 **"Direct visualization of CFTR conformation by atomic force microscopy imaging"**

Massimo Vassalli (Istituto di Biofisica - Consiglio Nazionale delle Ricerche)

Publications

- Marasini C. et al. "Visualization of single proteins from stripped native cell membranes: a protocol for high-resolution atomic force microscopy" *Microsc Res Tech.* 2013 Jul;76(7):723-32

Abstracts

- Marasini C. et al. "Direct visualization of CFTR conformation by atomic force microscopy imaging" 8th EBSA European Biophysics Congress (August 23-27 2011, Budapest, Hungary) in *Eur Biophys J* 2011, 40 (Suppl 1):S3-S11

- FFC Project#7/2009 **"Strategies for the suppression of Na⁺ and fluid hyperabsorption in cystic fibrosis airway disease"**

Olga Zegarra-Moran (Laboratorio di Genetica Molecolare - Istituto "Giannina Gaslini" - Genova)

Publications

- Melani R. et al., "Analysis of ion transport in the airway epithelium using RNA interference" *Curr Opin Mol Ther*, 11:282-291, 2009.
- Auriche C. et al., "CFTR expression and activity from the human CFTR locus in BAC vectors, with regulatory regions, isolated by a single-step procedure" *Gene Therapy*, 17:1341-1354, 2010.
- Becq F. et al., "Pharmacological therapy for cystic fibrosis: from bench to bedside" *J Cyst Fibros*, 10:S129-45, 2011
- Gianotti A. et al., "Epithelial sodium channel silencing as a strategy to correct the airway surface fluid deficit in cystic fibrosis" *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2013 Sep;49(3):445-52
- Gianotti A. et al. "Epithelial sodium channel silencing as a strategy to correct the airway surface fluid deficit in cystic fibrosis" *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2013 Sep;49(3):445-52. doi: 10.1165

Abstracts

- Gianotti A. et al. "Innovative strategies for the Suppression of Fluid Hyperabsorption and the Recovery of airways hydration in cystic fibrosis" 2011 ECFC Basic Science Conference 30 March - 2 April 2011, Tirrenia, Pisa, Italy
- Zegarra-Moran O., "Identification of components of innate defense in the airway surface fluid", ECFS Conference. New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis (2009, Tavira, Portugal)
- Zegarra-Moran O., "Binding of potentiators to CFTR is pH sensitive 33rd European Cystic Fibrosis Conference" (2010, Valencia, Spain).
- Zegarra-Moran O., "Epithelial sodium channel inhibition in primary human bronchial epithelia by transfected siRNA" Ion Channel Research Network Meeting (2011, Cambridge, UK)
- Melani R. et al., "CFTR Activity and Potentiators Binding Are Modulated By Cytosolic pH" New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis" 2011 (Tirrenia, Italy)
- Zegarra-Moran O., Caci E., Pedemonte N. et all. "CFTR and cystic fibrosis: understanding the function and searching for a cure - 1st International Scientific Conference. University of Zakho, 2013 (Zakho, Kurdistan Region, Irak)

- FFC Project#18/2009 **"Mapping IL-8 gene transcription machinery in bronchial epithelial cells"**

Giulio Cabrini (Lab. Patologia Molecol. - Centro FC - OCM Verona)

Publications

- Bezzerrini V. et al. "Phospholipase C-β3 is a key modulator of IL-8 expression in cystic fibrosis bronchial epithelial cells" *J Immunol.* 2011 Apr 15;186(8):4946-58
- Bezzerrini V. et al. "Mapping transcriptional machinery of IL-8 gene in human bronchial epithelial cells" *J Immunol.* 2011 Dec 1;187(11):6069-81

Abstracts

- Gambari R. et al. "Pharmacological modulation of chemotactic signalling in respiratory models" 2010 ECFS Conference - April 7-10, Carcavelos (Portugal)
- Bezzerrini V et al "Genetic regulatory network of Interleukin-8" 3rd European CF Young Investigator Meeting, Lille, France, 2009
- Cabrini G., "Modulazione farmacologica della infiammazione polmonare cronica", 1° Conferenza Aziendale sulla Ricerca, La patologia polmonare, Azienda Ospedaliera Universitaria di Verona, Verona, 2010
- Bezzerrini V. et al., "Role of PLCB3 in pro-inflammatory signaling in bronchial epithelial cells", 25th North American Cystic Fibrosis Conference, Anaheim, CA, USA, 2011

- FFC Project#5/2010 **"The search of HSP70/HSC70 complex inhibitors useful to correct the ΔF508-CFTR"**

Mauro Mazzei (Dip. Scienze Farmaceutiche, Università di Genova), Paola Fossa (Dip. Scienze Farmaceutiche, Università di Genova), Maria Caterina Turco (Dip. Scienze Farmaceutiche, Università di Salerno)

Publications

- Cichero E. et al. "Scouting new molecular targets for CFTR therapy: the HSC70/BAG-1 complex. A computational study" *MedChemRes*, February 2012
- Basile A. et al. "Matrine modulates HSC70 levels and rescue ΔF508-CFTR" *J Cell Physiol.* 2012 Sep;227(9):3317-23
- Nieddu E. et al. "F508del-CFTR rescue: a matter of cell stress response" *Curr Pharm Des.* 2013;19(19):3476-96

- FFC Project#6/2010 **"Novel biomarkers for evaluation of efficacy of new therapies in cystic fibrosis"**

Paola Melotti (Centro Regionale Fibrosi Cistica, OCM Verona), Claudio Sorio (Dip. Patologia, Sez. Patologia Generale, Università di Verona)

Publications

- Sorio C. et al. "Defective CFTR expression and function are detectable in blood monocytes: development of a new blood test for cystic fibrosis" *PLoS One.* 2011; 6(7): e22212. Published online 2011 July 21
- Rizzo R. et al. "HLA-G expression and regulation during *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis patients" *Future Microbiology* 2016;11(3):363-73. doi: 10.2217/fmb.15.143

Abstracts

- Sorio C. et al., "Defective CFTR expression and function are detectable in blood monocytes: development of a new blood test for cystic fibrosis" 2011 ECFC Basic Science Conference 30 March - 2 April 2011, Tirrenia, Pisa, Italy
- Rizzo R. et al., "Ruolo della molecola HLA-G come marcatore dello stato infiammatorio nella CF", VII Meeting Nazionale SIFC, Latina, 14-15 Aprile 2011
- Sorio C. et al. "Impaired CFTR function in mild CF associat with the S977F/T5TG12 complex allele" NACFC 2012, Orlando, USA
- Rizzo R. et al. "Relevance of HLA-G in CF" NACFC 2012, Orlando, USA
- Tridello G. et al. "Search for appropriate outcomes of nasal potential differenc measurement for diagnosis" NACFC 2013, Salt Lake City, Utah, USA

- FFC Project#7/2010 **"Structural features of the intracellular domains of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator"**

Oscar Moran (Istituto di Biofisica CNR, Genova)

Publications

- Galeno L. et al. "Small-angle X-ray scattering study of the ATP modulation of the structural features of the nucleotide binding domains of the CFTR in solution" *Eur Biophys J.* 2011, 40:811-824
- Galfè E. et al. "A potentiator induces conformational changes on the recombinant CFTR nucleotide binding domains in solution" *Cell Mol Life Sci.* 2012 Nov;69(21):3701-13
- Marasini C. et al. "Thermodynamic study of the native and phosphorylated regulatory domain of the CFTR", 2012, *Biochem Biophys Res Commun.* 423:549-552
- Marasini C. et al. "A SAXS-based ensemble model of the native and phosphorylated regulatory domain of the CFTR", 2012, *Cell Mol Life Sci.* Oct 4. [Epub ahead of print]

Abstracts

- Galeno L. et al. "Structural Features of the Nucleotide Binding Domains of the CFTR in Solution" XX Congresso Nazionale SIBPA 11-14 settembre 2010, Arcidoso
- Galeno L. et al. "Structural Features of the Nucleotide Binding Domains of the CFTR in Solution" At XV school of Pure and applied Biophysics, Venezia, 24-28 January 2011
- Galeno L. et al. "Structural Features of the Nucleotide Binding Domains of the CFTR in Solution" ECFS- Basic Sciences 30 March- 2 April 2011, Tirrenia (Abstract, Poster and Oral Presentation)
- Moran O. "Model of the cAMP Activation of Chloride Transport by CFTR Channel and the Mechanism of Potentiators" ECFS- Basic Sciences 30 March- 2 April 2011, Tirrenia (Abstract, Poster and oral presentation)
- Marasini C. et al. "Direct visualization of CFTR conformation by atomic force microscopy" ECFS- Basic Sciences 30 March- 2 April 2011, Tirrenia (Poster)
- Moran O. "ATP-Dependent Conformational Changes of the NBD" The 34th European CF conference, Symposium CFTR Structure, Function and Therapy 8-11 June 2011, Hamburg (Oral Presentation)
- Galeno L. "Structural features of the intracellular domains of the Cystic Fibrosis transmembrane Conductance Regulator" Scuola di Dottorato in Bioscienze e Bioteconomie, Biochimica e Biofisica, Università di Padova, November 2011 (Abstract, Oral presentation)
- Marasini C. et al. "Conformational study of an intrinsic disordered

- protein by molecular dynamics" Giornata Ligure di Bioinformatica, Rete Ligure di Bioinformatica, 16 Dicembre 2011, Genova (Poster)
- Moran O. "On the structure of the regulatory domain of the CFTR" ECFS Basic Science Conference, 28 March - 1 April 2012. Sainte Maxime (Abstract, Oral Presentation)
 - Marasini C. "Conformational and structural study of an intrinsic disordered protein" HERCULES - Higher European Research Course for Users of Large Experimental Systems. February 26-March 27 2012, Grenoble, Paris and Villigen (Poster)
 - Marasini C. et al. "Structural study of R domain of CFTR: an intrinsically unstructured protein" Open mind 2012, Bioingegneria, Università di Genova, 13 September 2012. (Oral Presentation)
 - Galeno L. "Regulatory domain: structural characterization of an intrinsic disordered protein" Scuola di Dottorato in Bioscienze e Biotecnologie, Biochimica e Biofisica, Università di Padova, June 2012 (Poster)
 - Marasini C. et al. "Structural study of R domain of CFTR: an intrinsically unstructured protein" XXI Congresso Nazionale della Società Italiana di Biofisica Pura ed Applicata SIBPA, September 17-20 2012, Ferrara (Abstract and Oral presentation)
 - Marasini C. et al. "Thermodynamical and structural changes in two functional states of regulatory domain of CFTR" The 11th Croatian School of Biophysics, Biomacromolecular Complexes and Assemblies, October 1-10, 2012 Primošten (Abstract, Poster and Oral presentation)
 - Moran O. "SAXS study of the ATP-modulation of the structural features of the nucleotide binding domains of the CFTR in solution. At Area della Ricerca di Palermo, CNR, Palermo 11 May 2011
 - Moran O. "On the molecular structure of the intracellular domains of the CFTR" At Faculté de Médecine Paris - Descartes, Site Necker, Paris, 23 January 2012

PhD Thesis

- Marasini C. "Structural study of CFTR intrinsically disorder domain by computational and experimental approaches" Università degli Studi di Genova, Tesi di Dottorato di Ricerca in Bioingegneria, 25° ciclo, aprile 2013

FFC Project#8/2010 "Decrease apical infection of CFTR by *Pseudomonas aeruginosa* infection: role of NHERF1 phosphorylation"

Anna Tamanini (Laboratorio Patologia Molecolare, Laboratorio Analisi Cliniche ed Ematologiche, OCM Verona), Stephan Reskin (Dip. Fisiologia Generale ed Ambientale, Università di Bari)

Abstracts

- Tamanini A. et al. "Decreased apical expression of CFTR by *Pseudomonas Aeruginosa* infection in respiratory cells: role of NHERF1 phosphorylation" 2011 ECFC Basic Science Conference 30 March - 2 April 2011, Tirrenia, Pisa, Italy
- Rubino R. et al. "Pseudomonas aeruginosa reduces the expression of CFTR in airways via post translational modification of NERFH1" New frontiers in basic science of cystic fibrosis, Malta, ECFS Conference, 26-29 March 2014
- FFC Project#2/2011 "PTC124 derivatives as a novel approach to improve the readthrough of premature stop codons in the CFTR gene" Aldo Di Leonardo (Dip. Scienze e Biotecnologie Molecolari e Biomolecolari, Università di Palermo)

Publications

- Lentini L. et al. "Towards a rationale for the PTC124 (Ataluren) promoted readthrough of premature stop codons: a computational approach and GFP-reporter cell-based assay" Mol Pharm. 2014 Mar 3;11(3):653-64. doi: 10.1021/mp400230s. Epub 2014 Feb 7.

Abstract

- Lentini L. et al. "Ptc124 derivatives as a novel approach to improve the readthrough of premature amber and ochre stop codons" 86° CONGRESSO SIBS. Palermo 24 - 25 Ottobre
- Lentini L. et al. "Azione readthrough di derivati del ptc124 su sistemi modello cellulari e in cellule di epitelio bronchiale-fc ib3.1 (cftr Df508/w1282x)" XIX Congresso Italiano della Fibrosi Cistica, IX Congresso Nazionale della Società Italiana per lo Studio della Fibrosi Cistica, 13-16 Novembre 2013, Hotel Città del Mare, Terrasini (PA)
- Gallucci G. et al. "Valutazione dell'azione readthrough della molecola PTC124 su sistemi modello cellulari contenenti mutazioni non senso e in cellule di epitelio bronchiale IB3.1 (F508del-W1282X) derivate da pazienti affetti da fibrosi cistica" Convegno "Biotecnologie: ricerca di base, interdisciplinare e traslazionale in ambito biomedico" Area della Ricerca del CNR di Palermo 27-28 Giugno 2013
- Lentini L. et al. "PTC124 derivatives as a novel approach to improve the readthrough of premature amber and ochre stop codons" Convegno SIBS 2013, Palermo
- FFC Project#3/2011 "Subverted signalling by protein kinase CK2 in ΔF508 CFTR expressing cells. Functional aspects and prospects in therapy" Lorenzo Pinna (Dip. Chimica Biologica, Università di Padova)

Publications

- Tosoni K. et al. "CFTR mutations altering CFTR fragmentation" Biochem J. 2012 Oct 15. [Epub ahead of print]
- Venerando A. et al. "Detection of Phospho-Sites Generated by Protein Kinase CK2 in CFTR: Mechanistic Aspects of Thr1471 Phosphorylation" PLoS One. 2013 Sep 18;8(9):e74232
- Cesaro L. et al. "Phosphorylation of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) serine-511 by the combined action of tyrosine kinases and CK2. The implication of tyrosine-512 and phenylalanine-508" AminoAcids, in press

- FFC Project#4/2011 "Role of spatial cAMP/PKA compartmentalization and activity in regulating CFTR function" Stephan Reskin (Dip. Fisiologia Generale ed Ambientale, Università di Bari)

Publications

- Monterisi S. et al. "Local modulation of Cystic Fibrosis Conductance Regulator: cytoskeleton and compartmentalized cAMP signalling" Br J Pharmacol. 2012 Oct 16

Abstracts

- Abbattisciani AC et al. "Spatial cAMP/PKA compartmentalization and activity in primary airway cells" ECFS Basic Science Conference, 20-24 March 2013, Malaga, Spain

FFC Project#1/2012 "The read-through approach for the treatment of cystic fibrosis caused by premature termination codons"

Monica Borgatti (Dipartimento Biochimica e Biologia Molecolare Università di Ferrara), Nicola Altamura (Istituto Biomembrane e Bioenergetica, CNR, Bari), Alberto Bresciani (IRBM, Science Park, Roma)

Publications

- Altamura N. et al. "Tobramycin is a suppressor of premature termination codons" J Cyst Fibros. 2013 Mar 26
- Marzaro G. et al. "Psoralen derivatives as inhibitors of NF-κB/DNA interaction: synthesis, molecular modeling, 3D-QSAR and biological evaluation" J Med Chem. 2013 Feb 17
- Fabbri E. et al. "Expression of microRNA-93 and Interleukin-8 during *Pseudomonas aeruginosa*-Mediated Induction of Proinflammatory Responses" American Journal of Respiratory Cell And Molecular Biology 2014, Vol X, pp 1-11
- Altamura E. et al. "Chemical-Induced Read-Through at Premature Termination Codons Determined by a Rapid Dual-Fluorescence System Based on *S. cerevisiae*" PLoS ONE 2016 Apr 27;11(4):e0154260. doi: 10.1371/journal.pone.0154260

Posters

- Borgatti M. et al. "Biological evaluation of psoralen derivatives as inhibitors of NF-κB/DNA interaction: molecular modeling, 3D-QSAR, EMSA assays and inhibition of IL-8 gene expression" 18th World Congress on Advances in Oncology and 16th International Symposium on Molecular Medicine, 10-12 Ottobre, 2013, Creta, Grecia
- FFC Project#2/2012 "Development of novel strategies to correct the chloride transport defect in cystic fibrosis" Galietta J. Luis (Lab. Genetica Molecolare, Istit. "G. Gaslini", Genova), Enrico Millo (Centre of Excellence for Biomedical Research, Università di Genova)

Publications

- Sondo E. et al. "Non-canonical translation start sites in the TMEM16A chloride channel" Biochim Biophys Acta. 2013 Aug 28. pii: S0005-2736(13)00287-3. doi:10.1016/j.bbamem.2013.08.010. [Epub ahead of print]
- Scudieri P. et al. "Association of TMEM16A chloride channel overexpression with airway goblet cell metaplasia" Journal of Physiology 2012; 590:6141-6155
- Scudieri P. et al. "TMEM16A-TMEM16B chimaeras to investigate the structure-function relationship of calcium-activated chloride channels" Journal of Biological Chemistry 2013 Jun 15;452(3):443-55
- Carbone A. et al. "Correction of defective CFTR/ENaC function and tightness of cystic fibrosis airway epithelium by amniotic mesenchymal stromal (stem) cells" J. Cell. Mol. Med. 2014 Jun 3. doi: 10.1111/jcmm.12303.
- Sondo E. et al. "The TMEM16A chloride channel as an alternative therapeutic target in cystic fibrosis" International Journal of Biochemistry & Cell Biology 2014; 52: 73-76
- Pedemonte N. et al. "Structure and functions of TMEM 16 Proteins (Anoctamins)" Physiol Rev, 2014 Apr;94(2):419-59
- Pesce E. et al. "Synthesis and structure-activity relationship of aminoarylthiazole derivatives as correctors of the chloride transport defect in cystic fibrosis" Eur J Med Chem. 2015 Jun 24;99:14-35
- Caci E. et al. "Upregulation of TMEM16A Protein in Bronchial Epithelial Cells by Bacterial Pyocyanin" PLoS One. 2015 Jun 29;10(6):e0131775

Abstracts

- Scudieri P. et al. "Constitutive activation of the Ca²⁺-activated chloride channel TMEM16A" 12th ECFS Basic Science Conference - 25-28 Marzo 2015, Algarve, Portugal

- Pesce E. et al. "Aminoarylthiazoles as correctors and potentiators for mutant CFTR" 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th - 17th 2015, Rome, Italy
- Carbone A. et al. "Amniotic mesenchymal stem cells can correct the defective CFTR/ENaC function and tightness of CF airway epithelial cells upon coculture: involvement of gap junctions" 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th - 17th 2015, Rome, Italy
- Pesce E. et al. "Strategies to correct the chloride transport defect in cystic fibrosis" New frontiers in basic science of cystic fibrosis, Malta, ECFS Conference, 26-29 March 2014
- Bellotti M. et al. "Development of small molecules to correct the defective chloride transport in cystic fibrosis" ECFC Basic Science, Pisa, 2016

- FFC Project#3/2012 **"Study of the pathogenetic and therapeutic role of the Epithelial Na⁺ channel (ENaC) in CF and CF-like disease"**
Marco Lucarelli (Dip. Biotecnologie cellulari ed Ematologia, Università "La Sapienza", Roma), Cristina Bombieri (Dip. Scienze della Vita e della Riproduzione, Università di Verona), Massimo Conese (Dip. Scienze Biomediche, Università di Foggia)

Abstracts

- Lucarelli M et al. "Espressione e metilazione dei geni ENaC" Congresso Società Italiana di Biochimica Clinica (SIBIOC), Roma 5-8 ottobre 2010
- Lucarelli M. et al. "Expression and DNA methylation of ENaC genes" European Cystic Fibrosis Conference (ECFC), Valencia 16-19 June 2010
- Castellani S. et al. "Study of the role of ENaC in cystic fibrosis: Expression of ENaC subunits as an investigation tool of the interaction between CFTR and ENaC and therapeutic approaches by epigenetic manipulation and activity reduction" 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th - 17th 2015, Rome, Italy

- FFC Project#4/2012 **"The molecular structure and the folding of the whole Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR)"**

Oscar Moran (Istituto di Biofisica CNR, Genova)

Publications

- Baroni D, Zegarra-Moran O, Moran O. "Functional and pharmacological induced structural changes of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in the membrane solved using SAXS" Cell and Molecular Life Sciences 2014 Oct 2
- Baroni D. et al. "Direct interaction of a CFTR potentiator and a CFTR corrector with phospholipid bilayers" European Biophysics Journal 26 Apr 2014
- Moran O. et al. "On the structural organization of the intracellular domains of CFTR" Int J Biochem Cell Biol. 2014 Jul;52:7-14

Abstracts

- Pollock NL. et al. "Purification and biophysical analysis of ΔF508 and G551D CFTR" NACFC 2013, Salt Lake City, Utah, USA
- Pollock NL. et al. "From heterologous expression to homogeneous samples: large-scale production of a human ABC transporter for structural studies" In: Role of multidrug resistance proteins in pharmacokinetics and toxicology, 3-7th September 2013 (Masuria, Poland)
- Belmonte L. et al. "Molecular dynamics analysis of the normal and mutated cystic fibrosis transmembrane regulator: nucleotidebinding domain interactions" CCII Congresso della Società Italiana di Biofisica Pura ed Applicata, 21-24 Settembre 2014 (Palermo, Italia)

- FFC Project#5/2012 **"Modulation of post-translational modification and quality control system as a novel therapeutic strategy for Cystic Fibrosis"**

Nicoletta Pedemonte (Lab. Genetica Molecolare, Ist. G. Gaslini, Genova)

Publications

- Tomati V. et al. "Genetic Inhibition Of The Ubiquitin Ligase Rnf5 Attenuates Phenotypes Associated To F508del Cystic Fibrosis Mutation" Sci Rep. 2015 Jul 17;5:12138

- FFC Project #1/2013 **"Mechanism of action of trimethylangelicin in rescuing F508del CFTR functional expression"**

Valeria Casavola (Dip. di Bioscienze, Biotecnologie e Biofarmaceutica, Università di Bari)

Publications

- Rubino R, Bezzerra V, Favia M et all "Pseudomonas aeruginosa reduces the expression of CFTR via post-translational modification of NHERF1" Pflugers Arch 2014 Mar 5
- Favia M. et al. "Trimethylangelicin promotes the functional rescue of mutant F508del CFTR protein in cystic fibrosis airway cells" Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2014; May 9
- Abbattisciani AC. et al. "Correctors of mutant CFTR enhance subcortical cAMP/PKA signaling via ezrin phosphorylation and cytoskeleton organization" J Cell Sci, 2016 Jan 28

- Laselva O. et al. "The investigational Cystic Fibrosis drug Trimethylangelicin directly modulates CFTR by stabilizing the first membrane-spanning domain" Biochemical Pharmacology 2016 Sep 8. pii: S0006-2952(16)30265-9

Abstracts

- Abbattisciani AC. et al. "Role of small molecule F508del CFTR correctors on the cAMP/PKA/ezrin compartmentalization in primary CF-BE cells" 1st Italian CF Young Investigator Meeting January 16th - 17th 2015, Rome, Italy
- Laselva O. et al. "Trimethylangelicin (TMA) binds directly to purified WT-CFTR" NACFC 2015
- Laselva O. et al. "Trimethylangelicin (TMA) promotes F508del-CFTR functional rescue in CF airways cells" New frontiers in basic science of cystic fibrosis, Malta, ECFS Conference, 26-29 March 2014
- Laselva O. et al. "Trimethylangelicin (TMA) promotes F508del-CFTR functional rescue in CF airway cells", CF Basic science conference, Pisa, 2016
- Laselva O. et al. "Intramolecular assembly disrupted by ΔF508 can be modulated by structurally unrelated compounds" 13th ECFS Basic Science Conference, 30 March - 02 April 2016, Pisa, Italy

- FFC Project#3/2013 **"ΔF508-CFTR correctors deriving from computational design and from safe natural compounds for a prompt clinical application"**

Mauro Mazzei (Dipartimento di Farmacia, Università di Genova), Paola Fossa (Dip. di Farmacia, Università di Genova), Maria Pascale (Dip. di Farmacia, Università del Salento)

Publications

- Nieddu E. et al. "The search for a common structural moiety among selected pharmacological correctors of the mutant CFTR chloride channel" Future Med Chem. 2014;6(17):1857-68
- Nieddu E. et al. "Phenylhydrazones as Correctors of a Mutant Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator" Arch Pharm 2016 Feb;349(2):112-23
- FFC Project #5/2013 **"Vessel associated progenitor cells as a promising cell-based approach to treat cystic fibrosis disease"**
Graziella Messina (Dip. di Bioscienze, Università degli Studi di Milano)

Abstracts

- Vezzali C. et al. "Vessel associated progenitor cells in the cell-based therapy of the cystic fibrosis lung disease" 11th ECFS Basic Science Conference, Malta, 26-29 March 2014
- FFC Project #6/2013 **"Establishment of a semi-automated evaluation of CFTR function in blood cells for clinical applications"**
Claudio Sorio (Dip. di Patologia, Sez. Patologia generale, Università di Verona), Monica Averna (Dip. di Medicina Sperimentale, Università di Genova), Mario R. Buffelli (Dip. Scienze Neurologiche e del Movimento, Università di Verona)

Publications

- Johansson J et al. "Detection of CFTR protein in human Leukocytes by Flow Cytometry" Cytometry 2014 Jul;85(7):611-20. doi: 10.1002/cyto.a.22456. Epub 2014 Mar 12
- Ettorre M. et al. "Electrophysiological evaluation of Cystic Fibrosis Conductance Transmembrane Regulator (CFTR) expression in human monocytes" Biochimica et Biophysica Acta vol 1840: 3088-3095

Abstracts

- Bavestrello M. et al. "Alterations of CF-PBMC induced by an increase in [Ca2+]i" 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th - 17th 2015, Rome, Italy
- Vercellone S. et al. "Measure of CFTR expression and function in peripheral blood leukocytes" 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th - 17th 2015, Rome, Italy
- Vercellone S. et al. "Il test con flusso-citometria per identificare l'espressione di CFTR dopo trattamento con nuovi farmaci in linee cellulari epiteliali" 39th European Cystic Fibrosis Conference, 8 - 11 June 2016, Basel, Switzerland

- FFC Project#7/2013 **"Nasal epithelial cells as a novel diagnostic approach for cystic fibrosis and CFTR related-disorders"**

Publications

- Terlizzi V. et al. "Genotype-phenotype correlation and functional studies in patients with cystic fibrosis bearing CFTR complex alleles" J Med Genet 2016;0:1-12. doi:10.1136/jmedgenet-2016-103985

- FFC Project #1/2014 **"Identification and validation of novel molecules obtained by integrated computational and experimental approaches for the read-through of PTCs in CF cells"**

Laura Lentini (Dip. di Biologia, Scienze Chimiche e Farmaceutiche e Tecnologie -STEBICEF, Sez. di Biologia Cellulare, Università di Palermo), Ivana Pibiri (Dip. di Biologia, Scienze Chimiche e Farmaceutiche e Tecnologie - STEBICEF, Sez. di Biologia Cellulare, Università di Palermo)

Publications

- Pibiri I. et al. "Enhancement of premature stop codon readthrough in the CFTR gene by Ataluren (PTC124) derivatives" Eur J Med Chem. 2015 Aug 28;101:236-44
- Pibiri I. et al. "Exploring the readthrough of nonsense mutations by non-acidic Ataluren analogues selected by ligand-based virtual screening" European Journal of Medicinal Chemistry 2016 Oct 21;122:429-35. doi: 10.1016/j.ejmech.2016.08.035

Abstracts

- Lentini L. et al. "Premature termination codon 124 derivatives as a novel approach to improve the read-through of premature amber and ochre stop codons" J Biological Research, Vol 88, No 1 (2015): 86th SIBS National Congress, Palermo, Italy, 24-25 October 2013
- Pibiri I. et al. "Nonsense Mutation Readthrough Enhancement by Variation of Fluorine Number and Position in a Series of PTC124 Derivatives", EFMC-ISMC 2014-XXIII International Symposium on Medicinal Chemistry, Lisbon, Portugal - September 7-11, 2014
- Lentini L, Pibiri I, Melfi R et Al. "Integrated computational and experimental approaches for the identification of new molecules with readthrough activity on premature termination codons (PTCs) in cystic fibrosis cells" IBIM-CNR: "Biotecnologie e ricerca di base interdisciplinare e traslazionale in ambito biomedico", presso il CNR di Palermo, Dicembre 2015
- Lentini L, Pibiri I, Melfi R et Al. "Identification of new molecules with readthrough activity on premature termination codons (PTCs) in cystic fibrosis cells (CFTR deltaF508/W1282X)" XIV Congresso FISV, Roma 20-23 settembre 2016
- Pibiri I, Lentini L, Melfi R et Al. "PTC124 and its derivatives: A rational approach against nonsense" Convegno Nazionale della Divisione di Chimica Organica della Società Chimica Italiana. 21 Settembre 2016-Venezia (Keynote)

• FFC Project #2/2014 "A systems biology approach to the correction of Cystic Fibrosis: from building a network of proteostasis regulatory pathways to combinatorial targeting. (A rational approach to develop novel drugs for the treatment of Cystic Fibrosis)"

Alberto Luini (Centro Nazionale Ricerche, Dip. di Scienze Biomediche, Istituto di Biochimica delle Proteine, Napoli)

Publications

- Hegde RN. et al. "Unravelling druggable signalling networks that control F508del-CFTR proteostasis" Elife, 2015 Dec 23;4. pii: e10365. doi: 10.7554

• FFC Project#3/2014 "Testing CFTR in epithelial organoids for drug development and diagnosis of cystic fibrosis"

Melotti Paola (Centro Fibrosi Cistica, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona), Hugo de Jonge (Gastroenterology & Hepatology, Erasmus University Medical Center, Rotterdam)

Abstracts

- Calder S. et al. "CFTR in epithelial organoids: relevance for drug development and diagnosis of cystic fibrosis", 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th-17th 2015, Rome, Italy
- Calder S. et al. "CFTR function in epithelial organoids" 10th European CF Young Investigator Meeting, Paris, 2016, February 10-12 .Oral Communication
- Sorio C. et al. "Combined standardized and new CFTR functional tests for improving diagnosis" 13th ECFS Basic Science Conference, 30 March - 02 April 2016, Pisa, Italy
- Calder S. et al "Intestinal epithelial organoids contribute to combination of functional tests supporting drug development and diagnosis" 13th ECFS Basic Science Conference, 30 March - 02 April 2016, Pisa, Italy
- Sorio C. et al. "Una combinazione di test (sia standardizzati che nuovi) per supportare la diagnosi FC e diagnosi incerte" 39th European Cystic Fibrosis Conference, 8-11 June 2016, Basel, Switzerland
- Sorio C. et al. "Combining standardized and new CFTR functional tests for diagnosis" 29th Annual North American Cystic Fibrosis Conference October 8-10, 2015, Phoenix, Arizona
- Calder S. et al. "Intestinal epithelial organoids contribute to combination of CFTR functional tests supporting drug development and diagnosis" 29th Annual North American Cystic Fibrosis Conference October 8-10, 2015, Phoenix, Arizona

• FFC Project#4/2014 "The molecular structure and the folding of the whole Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR): correctors sites"

Oscar Moran (Istituto di Biofisica, Consiglio Nazionale delle Ricerche - CNR, Genova)

Publications

- Pollock NL et al. "Structure of wild type and mutant F508del CFTR: A small-angle X-ray scattering study of the protein-detergent complexes" J Struct Biol. 2016 Apr;194(1):102-11. doi: 10.1016/j.jsb.2016.02.005

Abstracts

- Moran O, Pollock N, Satriano L, Zegarra-Moran O, Ford R et all "A small-angle x-ray scattering study of the wild type and mutant F508del CFTR: a very thorough analysis" 13th ECFS Basic Science Conference, 30 March - 02 April 2016, Pisa, Italy

• FFC Project#1/2015 "Relationship between mitochondria and F508del-CFTR in Cystic Fibrosis"

Anna Atlante (IBBE - Istituto delle Biomembrane e Bioenergetica, CNR Bari)

Publications

- Atlante A. et al. "Mitochondria and Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Dialogue: Some News" J Bioenerg Biomembr DOI 10.1007/s10863-016-9663-y

• FFC Project#3/2015 "Relationship between mitochondria and F508del-CFTR in Cystic Fibrosis"

Hugo de Jonge (Dipartimento di Gastroenterologia ed Epatologia - Centro Medico, Erasmus University, Rotterdam), Sara Calderer (Dip. di Patologia e Diagnostica, sezione di Patologia Generale - Università di Verona)

Abstracts

- Calderer P. et al. "Una combinazione di test per studiare il funzionamento di CFTR e favorire lo sviluppo di nuovi farmaci" 39th European Cystic Fibrosis Conference, 8 - 11 June 2016, Basel, Switzerland

• FFC Project#6/2015 "Evaluation of the biological and therapeutic properties of mesoangioblasts-vessel associated progenitor cells in the cell based therapy of the cystic fibrosis disease"

Graziella Messina (Dipartimento di Bioscienze - Università degli Studi di Milano)

Abstracts

- Bonfanti C. et al. "Mesoangioblasts - vessel associated progenitor cells- engraft epithelial tissues and express functional CFTR channel: prospects and promise for a cell therapy for Cystic Fibrosis" 10th Stem Cells, Cell Therapies and Bioengineering in Lung Biology & Lung Disease Conference; University of Vermont, Burlington VT, USA (July 27-30, 2015)

- Vezzali C. et al. "Mesoangioblasts -vessel associated progenitor cells- engraft epithelial tissues and express CFTR channel: prospects and promise for a cell therapy for Cystic Fibrosis" International Society for Stem Cell Research (ISSCR) Annual Meeting, San Francisco CA, USA (June 22-25, 2016)

- Vezzali C. et al. "Mesoangioblasts -vessel associated progenitor cells- engraft epithelial tissues and express CFTR channel: prospects and promise for a cell therapy for Cystic Fibrosis" 1st YOUNG SCIENTIST WORKSHOP on "Stem cell niche: from basic science to clinical application" Pavia, Italy (May 8-10 2016)

• FFC Project#8/2015 "Dissecting the role of TG2 in cystic fibrosis pathogenesis: identification of possible novel therapeutic targets"

Mauro Piacentini (Dipartimento di Biologia - Università di Tor Vergata, Roma), Luigi Maiuri (IERFC, Istituto Europeo per la Ricerca in Fibrosi Cistica - Istituto Scientifico San Raffaele, Milano)

Publications

- Diaz-Hidalgo L. et al. "Transglutaminase type 2-dependent selective recruitment of proteins into exosomes under stressful cellular conditions" Biochimica et Biophysica Acta 1863 (2016) 2084-2092

- Antonioli M. et al. "Emerging Mechanisms in Initiating and Terminating Autophagy" Trends in Biochemical Sciences 2016 Oct 17. pii: S0968-0004(16)30171-2. doi: 10.1016/j.tibs.2016.09.008

• FFC Project#9/2015 "Identification of molecular targets to reduce the side effect of gating potentiatotrs on the F508del-CFTR plasma membrane stability"

Anna Tamanini (Laboratorio di Patologia Molecolare, UOC Laboratorio Analisi sede di Borgo Trento, Dipartimento di Patologia e Diagnostica - Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona), Massimo Aureli (Dip. di Biotecnologia Medica e Medicina Traslazionale - Università di Milano)

Abstracts

- Tamanini A., Loberto N., Mancini G. et al. "New molecular targets to reduce the side effect of potentiatotrs on membrane stability of rescued F508del CFTR protein in respiratory airways" The 30th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, October 27-29,2016

• FFC Project#5/2016 "Implementation of a new imaged-controlled sweat test for in vivo quantification of CFTR function: value for diagnosis and efficacy of new therapies"

Teresinha Leal (Centro di Lovanio per Tossicologia e Farmacologia Applicata-LTAP, Istituto di Ricerca Clinica e Sperimentale-IREC, Università Cattolica di Lovanio), Stefano Ceri (Dipartimento di

Elettronica, Informazione e Bioingegneria, Università di Milano); Nguyen-Khoa Thao (Necker-Enfants Malades Hospital, AP-HP Laboratory of General Biochemistry, Paris)

Abstracts

- Leal T., Viphonephom P., Hoyep Tchanchou A. et al. "False-positive beta-sweat secretion test" The 30th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, October 27-29, 2016

FFC Project#TFCF "Task Force for Cystic Fibrosis"

Luis Galietta (Lab. Genetica Molecolare, Ist. "G. Gaslini", Genova), Tiziano Bandiera (Istituto italiano di tecnologia, Genova)

Publications

- Sondo E. et al. "Evaluation of a systems biology approach to identify pharmacological correctors of the mutant CFTR chloride channel" Journal of Cystic Fibrosis 2016 Jul;15(4):425-35. doi: 10.1016/j.jcf.2016.02.009

Abstracts

- Pedemonte N. et al. "Task force for CF: an Italian drug discovery project to identify novel correctors and potentiators of F508del-CFTR" 12th ECFS Basic Science Conference, 25-28 Marzo 2015, Algarve, Portugal
- Pedemonte N. et al. "Task Force for CF an Italian drug discovery project to identify novel correctors and potentiators of F508del-CFTR", 29th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, October 8-10, 2015, Phoenix (Arizona)
- Bandiera T, Pedemonte N, Caci E. et al. "Task Force for Cystic Fibrosis: identification of novel F508del-CFTR modulators" 13th ECFS Basic Science Conference, 30 March - 02 April 2016, Pisa, Italy
- Galietta L. "Scoperta di nuovi farmaci: il panorama della ricerca accademica" 39th European Cystic Fibrosis Conference, 8-11 June 2016 | BASEL, Switzerland"

2. GENETICS

Genetica

FFC Project#4/2003 "Identification of CF modifier genes by family studies and microarray analysis"

Giuseppe Novelli (Dipart. Biopatologia e Diagnostica per imm. - Univ. Tor Vergata RM), Pierfranco Pignatti (Ist. Biol. Genetica - Dip. Materno Infantile - Univ. Verona), Francesco Salvatore (Dipart. Bioch. e Biotec. Mediche - Univ. Federico II - Napoli)

Publications

- Groman J. D. et al. "Variation in a Repeat Sequence Determines Whether a Common Variant of the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Gene is Pathogenic or Benign" Am. J. Hum. Genet. 74:176-179, 2004
- Sangiulio F. et al. "Toward the pharmacogenomics of Cystic Fibrosis - an update" Future Medicine - Pharmacogenomics, 2004 Oct., 5 (7), pp. 861-878
- Salvatore D. et al. "Isolated elevated sweat chloride concentrations in the presence of the rare mutation S1455X: an extremely mild form of CFTR dysfunction" Am J Med Genet A. 2005 Mar 1;133A(2):207-8
- Castaldo G. et al. "Phenotypic discordance in three siblings affected by atypical cystic fibrosis with the F508del/D614G genotype" J Cyst Fibros. 2006 Aug;5(3):193-5
- Gambardella S. et al. "Gene expression profile study in CFTR mutated bronchial cell lines" Clin Exp Med (2006) 6:157-165

Abstracts

- Gambardella S. et al. "CAP70 as a possible modifier gene of Cystic fibrosis phenotype" 54th Annual Meeting Toronto, Canada October 26 - 30 2004
- Gambardella S. et al. "Different CFTR genotypes induce dissimilar expression patterns in CF putative modifier genes" European Human Genetics Conference 2005, Prague 7-10 May 2005
- Gambardella S. et al. "Different CFTR genotypes induce dissimilar expression patterns in CF putative modifier genes" 28th European CF Conference, Crete, Greece 22-25 June 2005
- Gambardella S. et al. "Differenti genotipi CFTR causano un diverso adattamento dell'espressione genica in linee cellulari FC" VIII Congresso Nazionale S.I.G.U. - Domus de Maria (CA) 28-30 settembre 2005
- Groman J. D. et al. "Length of a variable TG repeat predicts whether the IVS8-5T mutation in the CFTR gene is pathogenic or benign" VI Congresso Nazionale S.I.G.U. - Verona 24-27 settembre 2003;
- Belpinati F. et al. "Geni modificatori in fibrosi cistica" V Congresso Nazionale S.I.G.U. - 5° Congresso Nazionale S.I.G.U. Verona 24-27 settembre 2002
- Belpinati F. et al. "Geni modificatori del fenotipo polmonare in Fibrosi Cistica" 6° Congresso Nazionale S.I.G.U. Verona 24-27 settembre 2003
- Gambardella S. et al. "CAP70: nuovo gene modificatore del fenotipo nella Fibrosi Cistica?" 7° Congresso Nazionale S.I.G.U. 2004

FFC Project#5/2004 "Molecular pathology of CFTR pre-mRNA splicing. Diagnostic and therapeutic aspects"

Franco Pagani (IGCGB - Trieste)

Publications

- Buratti E. et al. "Nuclear factor TDP-43 Ninds to the Polymorphic TG Repeats in CFTR Intron 8 and Causes Skipping of Exon: A Functional Link with Disease Penetrance" Am. J. Hum. Genet. 74:1322-1325, 2004
- Amaral M. D. et al. "Quantitative methods for the analysis of CFTR transcripts/splicing variants" Journal of Cystic Fibrosis 3 (2004) 17-23
- Zuccato E. et al. "An Intronic Polypyrimidine-rich Element Downstream of the Donor Site Modulates Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Exon 9 Alternative Splicing" The Journal of Biological Chemistry - Vol 279, No. 17, Issue of April 23, pp. 16980-16988, 2004

- Pagani F. et al. "Synonymy mutations in CFTR exon 12 affect splicing and are not neutral in evolution" Proc Natl Acad Sci USA 2005, 102 (18), 6368-72.

FFC Project# 6/2003 "Assessing the possible utilization of CFTR-M470V genotyping for CF risk determination"

Pierfranco Pignatti (Ist. Biol. Genetica - Dip. Materno Infantile - Univ. Verona), Carlo Castellani (Centro FC - Ospedale Civile Maggiore - Verona), Guido Modiano (Dipart. Biologia "E. Calef" Università di Roma -Tor Vergata)

Publications

- Pompei F. et al. "Haplotype block structure study of the CFTR gene. Most variants are associated with the M470 allele in several European populations" European Journal of Human Genetics 2006 Jan;14(1):85-93
- Ciminielli B.M. et al. "Highly preferential association of NonF508del Cf mutations with the M470 allele" Journal of Cystic Fibrosis 6 (2007) 15 - 22

Abstracts

- Pignatti P. F. et al "Assessing the possible utilization of CFTR-M470V genotyping for CF risk determination" Congresso ASHG 26-30 ottobre 2004
- Pompei F. et al. "Determinazione del possibile utilizzo del polimorfismo CFTR-M470V per la determinazione del rischio di Fibrosi Cistica" Congresso SIGU 13 - 16 ottobre 2004

FFC Project#5/2004 "Screening of CFTR gene rearrangements in Italian CF patients"

Giuseppe Castaldo (CEINGE - Biotec. Avanzate s.c.r.l. - Univ. Federico II Napoli), Carlo Castellani (Centro FC - Ospedale Civile Maggiore - Verona), Cristina Bombieri (Ist. Biol. Genetica - Dip. Materno Infantile - Univ. Verona), Federica Sangiulio (Dipart. Biopatologia e Diagnostica per Immagini - Univ. Tor Vergata Roma)

Publications

- Bombieri C. et al. "Frequency of large CFTR gene rearrangements in Italian CF patients" European Journal of Human Genetics (2005) 13, 687-689;
- Salvatore D. et al. "Cystic fibrosis presenting as metabolic alkalosis in a boy with the rare D579G mutation" Journal of Cystic Fibrosis 3 (2004) 135-136
- Tomaiuolo R. et al. "Epidemiology and a novel procedure for large scale analysis of CFTR rearrangements in classic and atypical CF patients: a multicentric Italian study" J Cyst Fibrosis 7 (2008) 347-351

Abstracts

- Bombieri C. et al. "Ricerca di riarrangiamenti del gene CFTR in pazienti italiani con Fibrosi Cistica" 7° Congresso Nazionale S.I.G.U. 13 - 15 ottobre 2004, Pisa
- Bombieri C. et al. "Screening of CFTR gene rearrangements in Italian CF patients" Poster: Molecular Basis of Mendelian Disorder - The American Society of Human Genetics, 54th Annual Meeting, Toronto, Canada, October 26-30, 2004
- Tomaiuolo R. et al. "Screening di macrodelezioni del gene CFTR in pazienti CF originari del sud Italia" 37° Congresso Nazionale SIBIOC (Società Italiana di Biochimica Clinica e Biologia Molecolare Clinica), 11-14 ottobre 2005, Roma
- Tomaiuolo R. et al. "Screening di varianti geniche di geni modulatori in pazienti con fibrosi cistica con fenotipo epatico" Poster - 37° Congresso Nazionale Società It. Biochimica Clinica e Biologia Molecolare Clinica, Roma 11-14 Ott. 2005
- Cardillo G. et al. "Varianti geniche di SLC26A3 in pazienti con fibrosi cistica con mutazioni non note nel gene-malattia" Poster - 37° Congresso Nazionale Società It. Biochimica Clinica e Biologia Molecolare Clinica, Roma 11-14 Ott. 2005

- Tomaiuolo R. et al. "Screening of large rearrangements in the CFTR gene in cystic fibrosis patients from Southern Italy" 15th International Conference on Laboratory Medicine and 12h European Conference of Clinical Molecular Biology, 11-12 novembre 2005, Napoli;
- Tomaiuolo R. et al. "Screening di macrodelezioni del gene CFTR in pazienti CF" IX Congresso Nazionale S.I.G.U. - Lido di Venezia - 8-10 novembre 2006
- Raia V. et al. "La mutazione D1152H si associa a forme non classiche di CF" XII Congresso italiano della Fibrosi Cistica, Firenze, 23-25 novembre 2006

• FFC Project#7/2004 **"The Cystic Fibrosis mutation spectra in Italy: regional distribution and the European framework"**

Alberto Piazza (Dipart. Genetica e Biochimica - Univ. Torino)

Abstracts

- Riccardino F. et al. "Geografia (e storia) delle mutazioni della Fibrosi Cistica: l'Italia in un contesto europeo" 8° Congresso Nazionale S.I.G.U. - Cagliari 28 - 30 Settembre 2005.
- Viviani L. et al. "Cystic Fibrosis mutations spectra in Italy: a regional distribution" Journal of Cystic Fibrosis 4 (2005) S3-S10;

• FFC Project# 8/2004 **"CF: characterization of the unknown mutations in Italian patients and assessment of their pathogenic role"**

Maria Cristina Rosatelli, (Dipart. Scienze Biom. e Biotecn. Lab. Genetica Molecolare - Univ. Cagliari), Franca Dagna Bricarelli (Lab. Genetica Umana - Osp. Galliera Genova), Alberto Bonizzato (Centro FC - Ospedale Civile Maggiore - Verona), Manuela Seia (Lab. Genetica Molecolare ICP - Milano), Antonio Amoroso (Scuola di Genetica Medica - Univ. Trieste)

Publications

- Faa V. et al. "A new insertion / deletion of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene account for 3.4% of cystic fibrosis mutations in Sardinia: implications for population screening" J. Mol Diagn. 2006 Sep; 8(4):499-503

• FFC Project#9/2004 **"Selection and functional characterization of CFTR intronic sequence variations potentially causing atypical forms of CF: modulation of CFTR alternative splicing?"**

Roberto Strom (Dipart. Biotecnologie Cellulari ed Ematologia - Univ. La Sapienza Roma), Serena Quattrucci (Centro FC Regione Lazio, Dipart. Pediatria - Univ. La Sapienza Roma), Fernando Mazzilli (Dipart. Fisiopatologia Medica - Univ. La Sapienza Roma)

Publications

- Lucarelli M. et al. "A 96- well formatted method for exon and exon/intron boundary full sequencing of the CFTR gene" Anal. Biochem. 2006 Jun 15; 353(2): 226-35
- Narzi L. et al. "Does cystic fibrosis neonatal screening detect atypical CF forms? Extended genetic characterization and 4-year clinical follow-up" Clin Genet. 2007; 39-46
- Lucarelli M. et al. "A Genotypic-oriented View of CFTR Genetics Highlights Specific Mutational Patterns Underlying Clinical Macro-categories of Cystic Fibrosis" Mol Med. 2015 Apr 21;21:257-75

• FFC Project#10/2004 **"Genome-wide identification of target genes for the design of non-conventional antibiotics against cystic fibrosis - related pathogens"**

G. Bertoni (Dip. di Scienze Biomolecolari e Biotecnologie - Università di Milano)

Publications

- Rusmini R. et al. "A shotgun antisense approach to the identification of novel essential genes in *Pseudomonas aeruginosa*" BMC Microbiol. 2014 Feb 5;14:24

• FFC Project#14/2005 **"New approaches for noninvasive prenatal diagnosis of cystic fibrosis by fetal DNA analysis in maternal plasma"**

Laura Cremonesi (Unità di Genomica per diagnosi di patologie umane - Fond. Centro San Raffaele del Monte Tabor, Milano), Gabriella Restagno (S.S. di Diagnostica Molecolare e Test genetici integrati - Dip. Patologia Clinica dell' A.O.O.I.R.M. - S. Anna, Torino), Manuela Seia (Istituti Clinici di Perfez. - Lab. Genetica Molecolare, Milano), Carlo Castellani (Centro Reg. Fibrosi Cistica - Osp. Civile Maggiore, Verona)

Publications

- Bruno F. et al. "High- sensitive microarrays substrates specifically designed to improve sensitivity for the identification of fetal paternally inherited sequences in maternal plasma" Clin Chem Lab Med 2009, 47:818-823
- Mari C. et al. "Application of pyrosequencing to the identification of sequence variations in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene." Clin Chem Lab Med 2009; 47:1051-4
- FFC Project#15/2005 **"Splicing Affecting Genomic Variants in CFTR: Diagnostic and Therapeutic Aspects"**

Franco Pagani (ICGEB, Trieste)

Publications

- Youhn M. A. et al. "TDP43 depletion rescues aberrant CFTR exon 9 skipping" FEBS Letters 580 (2006) 1339-1344.
- Raponi M. et al. "Reduced splicing efficiency induced by synonymous substitutions may generate a substrate for natural selection of new splicing isoforms: the case of CFTR exon 12" Nucleic Acids Research, 2007, Vol. 35, No. 2, pp. 606-613

• FFC Project#5/2006 **"Mechanisms of recruitment of adult bone marrow-derived cells to normal and cystic fibrosis airway epithelium"**

Roberto Loi (Dip. Scienze Biomediche, Università di Cagliari)

Publications

- Eisenhauer P. et al. "Endogenous distal airway progenitor cells, lung mechanics, and disproportionate lobar growth following long-term post-pneumonectomy in mice" Stem Cells 2013 Jul;31(7):1330-9

• FFC Project#24/2006 **"Characterization of the unknown mutations in Italian patients and assessment of their pathogenic role: a prerequisite for prevention of Cystic Fibrosis by carrier screening and prenatal diagnosis"**

Maria Cristina Rosatelli, (Dipart. Scienze Biom. e Biotecn. Lab. Genetica Molecolare - Univ. Cagliari), M. Baffico (Ospedali Galliera, Laboratorio di Genetica, Genova), Carlo Castellani (Centro FC - Ospedale Civile Maggiore - Verona), Manuela Seia (Lab. Genetica Molecolare ICP - Milano)

Publications

- Faa V. et al. "A Synonymous Mutation in the CFTR Gene Causes an Aberrant Splicing in an Italian Affected by a Mild Form of Cystic Fibrosis" J Mol Diagn. 2010 May;12(3):380-3. Epub 2010 Feb 26

• FFC Project#19/2007 **"Molecular analysis of genes encoding CFTR interactors of SLC26 family in CF patients"**

Giuseppe Castaldo (CEINGE - Biotec. Avanzate s.c.a.r.l. - Univ. Federico II Napoli)

Publications

- Elce A. et al. "Three novel CFTR polymorphic repeats improve segregation analysis for cystic fibrosis" Clin Chem. 2009 Jul; 55(7):1372-9
- Amato F. et al. "Extensive molecular analysis of patients bearing CFTR-related disorders" J Mol Diagn. 2012 Jan;14(1):81-9. Epub 2011 Oct 20
- Tomaiuolo R. et al. "An MBL2 haplotype and ABCB4 variants modulate the risk of liver disease in cystic fibrosis patients: a multi-centre study." Dig Liver Dis. 2009 Nov;41(11):817-22. Epub 2009 May 20

Abstracts

- Elce A. et al. "Direct sequencing of CSTs in Cystic Fibrosis patients bearing undefined genotype" 13th Italian Cystic Fibrosis Conference, Milan, 30 Nov. - 2 Dec. 2007, J. Cyst Fibrosis 2008; 7, suppl. 3: pp. S12
- Tomaiuolo R. et al. "Molecular analysis of genes encoding CFTR interactors of SLC26 family in CF patients: preliminary results" 13th Italian Cystic Fibrosis Conference, Milan, 30 Nov. - 2 Dec. 2007, J. Cyst Fibrosis 2008; 7, suppl. 3: pp. S12-S13
- Elce A. et al. "L'analisi di tre nuovi marcatori polimorfici del gene CFTR rende più efficiente l'analisi molecolare indiretta della fibrosi cistica" XI Congresso nazionale SIGU, 23-25 novembre 2008, Genova
- Elce A. et al. "La caratterizzazione di tre nuovi polimorfismi nel gene CFTR permette il potenziamento dell'analisi di linkare nella fibrosi cistica" XIV Congresso italiano della fibrosi cistica - IV Congresso SIFC, Torino 27-29 novembre 2008

• FFC Project#20/2007 **"Evaluation of disease causing mutations in CFTR co-transcriptional splicing units: diagnostic and therapeutic aspects"**

Franco Pagani (ICGEB - Trieste)

Publications

- Baralle M. et al. "Influence of Friedrich Ataxia GAA noncoding repeat expansion on Pre-mRNA processing" Am J Hum Genet 83, 77-88, July 2008.
- Goina E. et al. "Binding of DAZAP1 and hnRNPA1/A2 to an exonic splicing silencer in a natural BRCA1 exon 18 mutant" Mol Cell Biol, 28, June 2008, 3850-3860.
- Pinotti M. et al. "U1-snRNA-mediated rescue of mRNA processing in severe factor VII deficiency" Blood, 111, 5, 2681-4.

• FFC Project#3/2008 **"Genetic factors influencing pulmonary disease in Cystic Fibrosis (CF) patients"**

Paolo Gasparini (Dip. Scienze dello Sviluppo e Riproduttive - Università di Trieste), Giulio Cabrini (Lab. Patologia Molecolare - Azienda Ospedaliero - Universitaria - Verona)

Publications

- Crovella S. et al. "A polymorphism in the 5' UTR of the DEFB1 gene is associated with the lung phenotype in F208del homozygous Italian cystic fibrosis patients" Clin Chem Lab Med 2011;49(1):49-54
- FFC Project#4/2008 **"Search of novel regulatory elements in the promoter region of CFTR gene"**
Pietro Pucci (CEINGE - Biotec. Avanzate s.c.a.r.l. - Univ. Federico II Napoli)

Publications

- Giordano S. et al. "Molecular and functional analysis of the large 5' promoter region of CFTR gene revealed pathogenic mutations in CF and CFTR-related disorders" J Mol Diagn. 2013 May;15(3):331-40

Abstracts

- Cozzolino F. et al. "Identification of novel CFTR promoter regulatory elements" Italian Proteomics Association, 4th Annual National Conference, Milano, June 22-25, 2009.
- Lo Presti A. et al. "Ricerca di mutazioni nel promotore del gene CFTR in soggetti affetti da Fibrosi Cistica" XII Congresso Nazionale di Genetica Umana: - SIGU - Torino, 8th -11th November 2009
- Iannone C et al "Identification of novel CFTR expression regulatory elements" ITPA 2010 - Florence, 9 th -12 th June 2010
- Giordano S. et al. "Il ruolo del promotore del gene CFTR: da elemento regolatore a possibile protagonista della patogenesi della malattia" 42° Congresso Nazionale SIBioC. Riassunti Poster Biochimica Clinica, 2010, vol. 34, n. 5, pag 419, n°061 - Rome, 5th -8th October 2010

- FFC Project# 5/2008 **"Feasibility of a screening program for the preconceptual identification of Cystic Fibrosis carriers in Sardinian population"**

Maria Cristina Rosatelli, (Dipart. Scienze Biom. e Biotecn. Lab. Genetica Molecolare - Univ. Cagliari)

Publications

- Faa V. et al. "A Synonymous Mutation in the CFTR Gene Causes Aberrant Splicing in an Italian Patient Affected by a Mild Form of Cystic Fibrosis" J. Mol Diagn. 2010 May; 12(3):380-383
- Coiana A. et al. "Preconceptual identification of cystic fibrosis carriers in the Sardinian population: a pilot screening program", J Cyst Fibros. 2011 May;10(3):207-11

- FFC Project# 9/2009 **"Molecular pathology of the pre-mRNA splicing machinery in cystic fibrosis: mechanistic aspects and therapeutic approaches"**

Franco Pagani (International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology, ICGEB, Trieste)

Publications

- Goina E. et al. "Approaches to study CFTR pre-mRNA splicing defects" in Amaral MD & Kunzelmann K (Ed.), Cystic Fibrosis, Methods in Molecular Biology, 2010, 741 (2): 155-159.
- Alanis E. F. et al. "An exon-specific U1 small nuclear RNA (snRNA) strategy to correct splicing defects" (in preparation)
- Alanis E. F. et al. "An exon-specific U1 small nuclear RNA (snRNA) strategy to correct splicing defects" Hum Mol Genet. 2012 Jun 1;21(11):2389-98

Abstracts

- Alanis E. F. et al. "Shift U1 snRNAs Targeted to an Intronic Splicing Silencer correct aberrant CFTR exon 12 skipping" 8th European Cystic Fibrosis Society Basic Science Conference, Tirrenia, Italy, Mar.-Apr. 2011
- Alanis E. F. et al. "Shift U1 snRNAs targeting to ISS in splicing correction" 2nd International EURASNET Conference on Alternative Splicing, Granada, Spain, Feb.-Mar. 2011
- Alanis E. F. et al. "Defective Donor Splice Sites: Molecular analysis and therapeutic approaches" EURASNET Focus Meeting on RNA Mis-Splicing, Cambridge, UK, Churchill College, Univ. Of Cambridge, Jul. 2010
- FFC Project#3/2010 **"An induced pluripotent stem cell (iPS)-based approach for the repopulation and phenotypic correction of cystic fibrosis airway epithelium"**
Roberto Loi (Dip. Scienze Biomediche, Università di Cagliari)

Abstracts

- Loi R. et al. "Derivation of normal and cystic fibrosis human induced pluripotent stem cells (iPSCs) from airway epithelium" 36th European Cystic Fibrosis Conference (ECFC), Lisboa, 12-15 June, 2013
- FFC Project#6/2011 **"CFTR mRNA analysis as a key step to understand the role of CFTR gene mutations in cystic fibrosis disease expression"**
Stefano Duga (Dip. Biologia e Genetica per le Scienze Mediche, Università di Milano)

Publications

- Costantino L. et al. "Fine characterization of the recurrent c.1584 +18672A>G deep-intronic mutation in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene" Am J Respir Cell Mol Biol. 2013 May; 48(5):619-25

Abstracts

- Rusconi D. et al. "Fine characterization of the recurrent c.1584 +18672A>G deep-intronic mutation in the CFTR gene" European Human Genetics Conference 2012
- FFC Project#7/2011 **"New strategies for clinical application of noninvasive prenatal diagnosis of cystic fibrosis based on the analysis of fetal mutated alleles in maternal plasma"**
Maurizio Ferrari (Lab. Biologia Clinica Molecolare e Citogenetica, Università Vita-Salute HSR, Milano), Marina Cretich (Ist. di Chimica del Riconoscimento Molecolare, CNR, Milano)

Abstracts

- Galbiati S. et al. "Non-invasive prenatal diagnosis of genetic diseases by advanced technologies" 3rd Congress of the European Society of Predictive Medicine (EUSPM), 9th-10th March 2013, Riolo Terme (RA), Italy
- Galbiati S. et al. "Non-invasive prenatal diagnosis of genetic diseases by advanced technologies" Clinical Biochemistry (2012) doi:10.1016/j.clinbiochem. 2013.05.030
- Galbiati S. et al. "Noninvasive prenatal diagnosis of cystic fibrosis" EUROMEDLAB, Milano, 19-23 May 2013
- Galbiati S. et al. "Fetal DNA in maternal plasma: a noninvasive tool for prenatal diagnosis of genetic diseases by COLD-PCR and Innovative Microarray Substrates" International Meeting on Cell-free DNA, Copenhagen, 2013, 20th- 21st

- FFC Project# 8/2011 **"A field study in an area of extensive carrier screening for cystic fibrosis"**

Carlo Castellani (Centro Regionale FC, Azienda Ospedaliera Universitaria, Verona), Luigi Picci (Clinica Pediatrica, Azienda Ospedaliera, Padova)

Abstracts

- Castellani C. et al. "Carrier screening and Neonatal screening for cystic fibrosis: a complex relationship" Presentazione a European Society of Human Genetics Conference, Milan 2014
- Castellani C. et al. Poster "Population carrier screening reduces dramatically Cf incidence: evidence from a twenty years' experience" 28th North American Cf Conference, Atlanta October 9-11 2014
- Castellani C. et al. Poster "Population carrier screening impairs positive predictive value of CF newborn screening: evidence from a twenty years' experience" 28th North American CF Conference, Atlanta October 9-11 2014

- FFC Project# 9/2011 **"Cystic fibrosis: to screen or not to screen? Involving citizens' jury in decision on carrier screening"**

Paola Mosconi (Ist. Ricerche Farmacologiche Mario Negri, Lab. for Medical Research and Consumer Involvement), Carlo Castellani (Centro Regionale FC, Azienda Ospedaliera Universitaria, Verona)

Publications

- Mosconi A. et al. "Cystic fibrosis: to screen or not to screen? Involving a Citizens' jury in decisions on screening carrier" Health Expectations doi:10.1111/hex.12261

- FFC Project#7/2013 **"Nasal epithelial cells as a novel diagnostic approach for Cystic Fibrosis and CFTR related-disorders"**

Giuseppe Castaldo (CEINGE-Biotecnologie Avanzate s.c.r.l., Napoli)

Abstracts

- Scorsa M. et al. "Nasal epithelial cells as a novel diagnostic approach for Cystic Fibrosis and CFTR relateddisorders" 1st Italian CF Young Investigators Meeting, January 16th-17th 2015, Rome, Italy

- FFC Project#9/2014 **"Cystic fibrosis modifier genes related to Pseudomonas aeruginosa lung disease"**

Alessandra Bragonzi (Unità di Infekzioni e Fibrosi cistica, Divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie infettive, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano), Iraqi Fuad (Clinical Microbiology and Immunology, Tel Aviv University)

Publications

- Lorè NI. et al. "Host genetic diversity influences the severity of Pseudomonas aeruginosa pneumonia in the Collaborative Cross mice" BMC Genet. 2015 Aug 28;16:106

Abstracts

- Lorè NI. et al. "Host genotype influences Pseudomonas aeruginosa susceptibility in the Collaborative Cross and inbred mouse populations", 28th Annual North American Cystic Fibrosis Conference - Georgia, October 9-11, 2014

- Cigana C. et al. "Pseudomonas aeruginosa adaptation as a potential risk factor to the progression of cystic fibrosis airway disease in mice and humans", 38th ECFS Conference, Brussels, Belgium, 10-13 June 2015

3. MICROBIOLOGY

Microbiologia

- FFC Project#4/2002 "Taxonomy and virulence markers of *B. cepacia* strains associated with respiratory infections in patients with cystic fibrosis"

Roberta Fontana (Lab. Microbiol e Virologia, Ospedale Civile Maggiore - Verona)

Publications

- Golini G. et al. "Molecular epidemiology and antibiotic susceptibility of Burkholderia cepacia-complex isolates from an Italian cystic fibrosis centre." Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2006 Mar;25(3):175-8.

Abstracts

- G. Golini et al. "Distribution of Burkholderia Cepacia complex isolates from patients with cystic fibrosis" 12th ECCMID, Milan, 24-27 April 2002. Clinical Microbiology and Infection 2002; 8 Supp. 1:114
- G. Golini et al. "Distribution of Burkholderia Cepacia complex isolates from patients with cystic fibrosis" 25th European Congress CF Society, Genoa; 20-23 June 2002. Journal of CF 2002; 1 Supp. 1: 127
- G. Golini et al. "Burkholderia Cepacia infection and clinical course in cystic fibrosis" 26th European Congress CF Society, Belfast; 4-7 June 2003. Journal of CF 2003; 2 Supp. 1:34.
- G. Golini et al. "In vitro of levofloxacin and ciprofloxacin on clinical isolates obtained from patients with cystic fibrosis" 11th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases - Istanbul, Turkey - 1-4 April 2001

- FFC Project#8/2003 "Gene regulation and adaptive mutation of *Pseudomonas aeruginosa* in a chronic lung infection model for Cystic Fibrosis"

Alessandra Bragonzi (Istituto per il trattamento sperimentale della fibrosi cistica, Osp. S. Raffaele, Milano), Gerd Döring (Institute for Gen. and Environ. Hygien - Univ. Tuebingen - Germany)

Publications

- Bragonzi A. et al. "Sequence diversity of the mucABD locus in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with cystic fibrosis" Microbiology (2006), 152, 3261-3269
- Bragonzi A. et al. "Nonmucoid *Pseudomonas aeruginosa* expresses alginate in the lungs of patients with cystic fibrosis and in a mouse model" J. Infect Dis. 2005; 192(3): 410-419

Abstracts

- Montanari S. et al. "Evaluation of the biological cost of *Pseudomonas aeruginosa* hypermutation in a murine model of chronic pulmonary infection" Paediatric Pulmonology, Suppl. 28: 289, 2005. (19th North American Cystic Fibrosis Conference, Baltimore, USA)
- Paroni M. et al. "Pathogenicity of *Pseudomonas aeruginosa* clonal strains isolated from CF patients in a murine model of chronic pulmonary infection" 20th Annual North American CF Conference; Denver - Colorado, 2-5 Nov. 2006
- Montanari S. et al. "Cost versus benefit of *Pseudomonas Aeruginosa* hypermutation in the absence or presence of antibiotic treatment" 20th Annual North American CF Conference; Denver - Colorado, 2-5 Nov. 2006
- Montanari S. et al. "Evaluation of the biological cost of hypermutation in *Pseudomonas aeruginosa* from patients with cystic fibrosis" 2nd FEMS Congress of European Microbiologists, Madrid, July 4-8, 2006

- FFC Project#9/2003 "Development of a rapid diagnostic test to discriminate *B. cepacia* complex species and genomovars in routine clinical analysis involving CF patients"

Renato Fani (Dipart. Biologia Animale e Genetica - Univ. Firenze), Giovanni Taccetti (Dipart. Pediatria - Centro Fibrosi Cistica - Ospedale Meyer - Firenze), Graziana Manno (Dipart. Pediatria - Osp. G. Gaslini - Genova), Silvia Tabacchioni (Dipart. Biotec. Prot. della Salute e degli Ecosistemi - Sez. Gen. e Genomica veg. - ENEA - CRE - CASACCIA -UTS - Roma)

Publications

- Tabacchioni S. et al. "Use of the gyrB gene to discriminate among species of the Burkholderia cepacia complex" FEMS Microbiol. Lett (2008) 1-8
- Papaleo M.C. et al. "Structural, evolutionary and genetic analysis of the histidine biosynthetic "core" in the genus *Burkholderia*" Gene 448 (2009) 16-28
- Perrin E. et al. "Exploring the HME and HAE1 efflux systems in the genus *Burkholderia*" BMC Evol Biology (2010), 10:164
- Ferri L. et al. "Application of multiplex single nucleotide primer extension (mSNuPE) to the identification of bacteria: The Burkholderia cepacia complex case" J Microbiol Methods. 2010 Mar;80(3):251-6

Abstracts

- Cocchi P. et al. "Identification of Burkholderia cepacia complex species by SNuPE analysis of recA and gyrB genes" 28th European CF Conference, Crete, Greece 22-25 June 2005;

- FFC Project#10/2003 "The quorum sensing of the emerging fibrocystic pathogen *B. cepacia*"

Vittorio Venturi (ICGEB Trieste)

Publications

- Venturi V. et al. "Quorum sensing in *B. cepacia* complex" Research in Microbiology 155 (2004) 238-244
- Bertani I. et al. "Regulation of the N-Acyl Homoserine Lactone-Dependent Quorum-Sensing in Rhizosphere *Pseudomonas putida* WCS358 and Cross-Talk with the Stationary-Phase RpoS Sigma Factor and the Global Regulator GacA" Applied and Environmental Microbiology, Sept. 2004, p. 5496-5502

Abstracts

- Bertani I. et al. "Negative regulation of N-acyl homoserine lactone quorum sensing in *Pseudomonas putida*" Pseudomonas 2005, 10th International Congress, Marsiglia, 27-31 Aug. 2005

- FFC Project#10/2004 "Genome-wide identification of target genes for the design of non-conventional antibiotics against CF related pathogens"

Giovanni Bertoni (Dipart. Scienze Biomolecolari e Biotecnologie - Univ. Milano)

Abstracts

- Vidal Aroca F. et al. "Functional genomics of the opportunistic pathogen *Pseudomonas Aeruginosa* by interfering antisense RNA" 25° Congresso Nazionale della SIMGBM, Orvieto 8- 10 giugno 2006;
- Vidal Aroca F. et al. "Functional genomics of the opportunistic pathogen *Pseudomonas Aeruginosa* by interfering antisense RNA" Summer School - International Univ. Bremen, 28 luglio - 4 agosto 2006;
- Milani A. et al. "Functional genomics of the opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa* by interfering antisense RNA" 1st European CF Young Investigator Meeting, Lille, Aug. 29-31, 2007

- FFC Project#11/2004 "Evaluation of the pathogenicity of environmental and clinical isolates of *Burkholderia cepacia* complex alone and in the presence of Ps aeruginosa"

Annamaria Bevilino (Dipart. Biotecnologie Agroindustr. e protezione della salute - ENEA - Casaccia - Roma), Fiorentina Ascenzioni (Dipart. Biologia cellulare e dello sviluppo - Univ. La Sapienza Roma), Alessandra Bragonzi (Ist. per il Trattamento speriment. della FC - Osp. San Raffaele - Milano)

Publications

- Chiarini L. et al. "Burkholderia cepacia complex species: health hazards and biotechnological potential" Trends in Microbiology Vol. 14 No. 6 June 2006; 277-286
- Pirone L. et al. "Burkholderia cenocepacia strains isolated from cystic fibrosis patients are apparently more invasive and more virulent than rhizosphere strains" Environmental Microbiology (2008) Oct;10(10):2773-84

Abstracts

- Pirone L. et al. "In vitro and in vivo pathogenicity of Burkholderia cenocepacia strains of clinical and environmental origin" 28th European CF Conference, Crete, Greece 22 - 25 June 2005;
- Pirone L. et al. "Clinical and environmental Burkholderia cenocepacia strains: evaluation of pathogenicity by in vitro and in vivo models" International Burkholderia Cepacia Working Group meeting April 20 - 23, 2006, Gent, Belgium
- Pirone L. et al. "Clinical and environmental Burkholderia cenocepacia strains: evaluation of pathogenicity by in vitro and in vivo models" 19th Annual North American CF Conference, Baltimore; October 20 - 23 2005
- Pirone L. et al. "In vitro and in vivo pathogenicity of clinical and environmental Burkholderia cenocepacia isolates" FISV, 2005, Environmental Microbiology and Ecology

- FFC Project#12/2004 "Antimicrobial resistance in Burkholderia cepacia complex from CF patients: identification, characterization and role of efflux transporters in intrinsic and acquired drug resistance"

Giovanna Riccardi (Dipart. Genetica e Microbiologia - Univ. Pavia), Graziana Manno (Dipart. Pediatria - Osp. G. Gaslini - Genova)

Publications

- Guglierame P. et al. "Efflux pump genes of the resistance-nodulation division family in Burkholderia cenocepacia genome" BMC Microbiol. 2006 Jul 20; 6:66
- FFC Project#6/2005, #12/2006, #11/2007 "Community-acquired MRSA and hospital- acquired MRSA in cystic fibrosis patients: a multicentre study regarding antibiotic susceptibility, epidemiology, natural history and clinical relevance"

Silvia Campana (Dipart. Pediatria - Centro Fibrosi Cistica - Ospedale Meyer - Firenze)

Publications

- Campana S. et al. "Emergence of an epidemic clone of community-associated methicillin-resistant Panton-Valentine leukocidin negative *Staphylococcus aureus* in Cystic Fibrosis patients populations" - Journal of Clinical Microbiology, Sept. 2007; vol. 45, No 9:3146-47
- Taccetti G. et al. "Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Cystic Fibrosis", European Infectious Diseases, 2008, vol. 2, issue 2.
- Taccetti G. et al. "Staphylococcus aureus meticillino-resistente comunitario e nosocomiale in fibrosi cistica: uno studio di epidemiologia molecolare" Medico e Bambino (2010)
- Cocchi P. et al. "Molecular epidemiology of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Italian cystic fibrosis patients: a National overview" J Cyst Fibros. 2011 Dec;10(6):407-11. Epub 2011 Jul 12.

Abstracts

- Piluso A. et al. "A national overview of MRSA epidemiology: emergence of an epidemic clone" NACFC 2006.
- Cocchi P. et al. "Epidemiology of Community acquired MRSA and hospital acquired MRSA in cystic fibrosis patients: a national overview" North American CF Conference, Anaheim, California, Oct. 3-6, 2007
- Cocchi P. et al. "Emergence of an epidemic clone of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA) Panton-Valentine leukocidin (PVL) negative in Cystic Fibrosis patients" 30th European CF Conference, Belek, Turkey, 13-16 June 2007
- Cocchi P. et al. "Epidemiologia italiana di staphylococcus aureus meticillino-resistente: risultati di uno studio multicentrico" XII Congresso Italiano Fibrosi Cistica, Firenze, 23-25 Nov. 2006
- Taccetti G. et al. "Methicillin-resistant *S. Aureus* (MRSA) in cystic fibrosis patients: prevalence and clinical findings" Pediatric pulmonology, Suppl. 31, 2008. 22nd Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, 22-25 October 2008, p. 343.
- Cocchi P. et al. "MLST analysis of an epidemic clone of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA) panton-valentine leukocidin (PVL) negative in cystic fibrosis patients" Pediatric pulmonology, Suppl. 31, 2008. 22nd Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, 22-25 October 2008, p. 348
- Campana S. et al. "Community-Aquired MRSA cause earlier infection than Hospital Acquired MRSA in patients with cystic fibrosis" 32nd European Cystic Fibrosis Conference, 10-13 giugno 2009, Brest, France.
- Cocchi P. et al. "Characterization of SCCmec types involved in persistent MRSA infections in cystic fibrosis patients" 32nd European Cystic Fibrosis Conference, 10-13 giugno 2009, Brest, France.
- Campana S. et al. "Infection with community-and hospital-acquired MRSA: influence on pulmonary function in CF patients" 23rd Annual North American Cystic Fibrosis Congress, Minneapolis, Minnesota, 15-17 October 2009.
- Cocchi P. "SCCMEC types involved in persistent MRSA infections in CF patients: a longitudinal study" 23rd Annual North American Cystic Fibrosis Congress, Minneapolis, Minnesota, 15-17 October 2009.

• FFC Project#7/2005 "Stenotrophomonas maltophilia, an emergent pathogen associated to cystic fibrosis: identification and molecular characterization of virulence determinants as potential targets for new therapeutic strategies"

Bianca Colonna (Dipart. Biologia Cellulare e dello Sviluppo - Lab. Microbiologia Molecolare - Univ. La Sapienza - Roma), Maurizio Sanguineti (Ist. Microbiologia - Univ. Sacro Cuore - Roma), Mauro Nicoletti (Dipart. Scienze Sanità Pubbli. - Sez. Microbiologia - Univ. La Sapienza - Roma), Mariassunta Casalino (Dipart. Microbiologia - Univ. Roma 3), Ersilia Ficarelli (Dipart. Medicina Pediatrica - Osped. Pediatrico "Bambin Gesù" - Roma)

Publications

- Di Bonaventura G. et al. "Molecular characterization of virulence determinants of *Stenotrophomonas maltophilia* strains isolated from patients affected by cystic fibrosis". Internat J Immunopath Pharmacol 2007; Vol. 20:529-37
- E. Roscetto et al. "PCR-based rapid genotyping of *Stenotrophomonas maltophilia* isolates" BMC Microbiol 2008 Nov 24;8:202.

Abstracts

- De Carolis E. et al. "Analisi proteomica di Stenotrophomonas Maltophilia" Congresso Società Italiana di Microbiologia (SIM), Genova 15-18 ottobre 2006.
- Del Chierico F. et al. "Caratterizzazione genetica e molecolare dei geni codificanti il flagello in ceppi di Stenotrophomonas Maltophilia isolati da pazienti con fibrosi cistica (FC)" Congresso Società Italiana di Microbiologia (SIM), Genova 15-18 ottobre 2006.
- Di Bonaventura G. et al. "Effetto di concentrazioni sub-inibenti di Moxifloxacina su Stenotrophomonas Maltophilia isolati da fibrosi cistica" Congresso Società Italiana di Microbiologia (SIM), Genova 15-18 ottobre 2006.

- FFC Project#8/2005 "Genetic fingerprinting of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Italian cystic fibrosis patients: comparison with isolates from the environment and other clinical origins in Europe" Graziana Manno (Dipart. Pediatria - Osp. "G. Gaslini" - Genova), Roberto Biassoni (Lab. Medicina Molecolare - Ist. Gaslini - Genova), Eugenio Agenore Debbia (DISCAT - Sez. Microbiologia "C.A. Romanzi" - Genova), Angela Sanguolo (ARPAL - Dipart. Prov. di Genova)

Abstracts

- Morelli P. et al. "Pseudomonas aeruginosa in CF patients: acquisition sources, means of transmission and hypermutable phenotype occurrence" 1st European CF Young Investigator Meeting, Lille - France; 29-31 Aug. 2007
- Manno G. et al. "Occurrence of *P.aeruginosa* (PA) with hypermutable phenotype (HMP) in Italian CF patients" 30th European CF Conference, Belek (Turkey), 6-9 June 2007
- Manno G. et al. "Genetic fingerprinting of *Pseudomonas aeruginosa* from Italian CF patients: comparison with isolates from environment and other clinical origins in Europe" 30th European CF Conference, Belek (Turkey), 6-9 June 2007

• FFC Project#9/2005 "Studies of the Quorum Sensing Systems of *Pseudomonas* and *Burkholderia*"

Vittorio Venturi (ICGEB Trieste)

Publications

- Rampioni G. et al. "The Quorum sensing negative regulator RsaL of *Pseudomonas Aeruginosa* binds to the *lasI* Promoter" Journal of Bacteriology (2006), vol. 188, No. 2, pp. 815-819.
- Solis R. et al. "Involvement of quorum sensing and RpoS in rice seedling blight caused by *Burkholderia plantarii*" FEMS Microbiol Lett 259 (2006) 106-112
- Bertani I. et al. "The *Pseudomonas putida* Lon protease is involved in N-acyl homoserine lactone quorum sensing regulation" BMC Microbiol 2007 Jul 26; 7:71
- Devescovi G. et al. "Involvement of a Quorum-Sensing-Regulated Lipase Secreted by a Clinical Isolate of *Burkholderia glumae* in Severe Disease Symptoms in Rice" Applied and Environmental Microbiology, (2007); 73 (15): 4950-8
- Licciardello G. et al. "Pseudomonas corrugata contains a conserved N-acyl homoserine lactone quorum sensing system; its role in tomato pathogenicity and tobacco hypersensitivity response" FEMS Microbiol. Ecol. (2007); 61 (2): 222-34
- Rampioni G. et al. "The *Pseudomonas* quorum sensing regulator RsaL belongs to the tetrahelical superclass of H-T-H proteins" Journal of Bacteriology, 2007, Vol. 189, No. 5, pp. 1922-1930
- Massa C. et al. "Isolation, heterologous and characterization of an endo-polylgalacturonase produced by the phytopathogen *Burkholderia cepacia*". Protein Expression and Purification 2007; 54(2): 300-308
- Steindler L. et al. "Detection of quorum sensing N-acyl homoserine lactone signal molecules by bacterial biosensors" FEMS Microbiol. Lett. 266 (2007)

• FFC Project#6/2006 "Genome-wide identification of target genes for the design of non-conventional antibiotics against cystic fibrosis-related pathogens"

Giovanni Bertoni (Dipart. Scienze Biomolecolari e Biotecnologie - Univ. Milano), Alessandra Bragonzi (Istituto per il trattamento sperimentale della fibrosi cistica, Osp. S. Raffaele, Milano)

Abstracts

- Milani A. et al. "Functional genomics of the opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa* by interfering antisense RNA" 1st European CF Young Investigator Meeting, Lille, August 29-31 2007
- Vecchietti D. et al. "Novel targets for antimicrobial molecules in *Pseudomonas aeruginosa*: identification and characterization of an essential membrane eukaryotic-like transglutaminase" Pediatric Pulmonology 47: 341. 2012 Cystic Fibrosis Conference
- Vecchietti D, Milani A, Rusmini R, Bertoni G "Novel targets for antimicrobial molecules in *Pseudomonas aeruginosa*: identification and characterization of an essential membrane eukaryotic-like transglutaminase" Pediatric Pulmonology 47: 341. 2012 Cystic Fibrosis Conference

• FFC Project#7/2006 "Influence of *Pseudomonas aeruginosa* and CF host on *Burkholderia cenocepacia* pathogenicity"

Annamaria Bevilino (Dipart. Biotecnologie Agroindustr. e protezione della salute - ENEA - Casaccia - Roma), Fiorentina Ascenzioni (Dipart. Biologia cellulare e dello sviluppo - Univ. La Sapienza Roma), Alessandra Bragonzi (Ist. per il Trattamento speriment. della FC - Osp. San Raffaele - Milano)

Publications

- Pirone L. et al. "Burkholderia cenocepacia strains isolated from cystic fibrosis patients are apparently more invasive and more virulent than rhizosphere strains" Environmental Microbiology (2008) Oct; 10(10):2773-84

Abstracts

- Pirone L. et al. "Influence of *Pseudomonas aeruginosa* on the growth rate and internalization of *Burkholderia cenocepacia*" 9° Convegno Nazionale FISV, Riva del Garda (TN), 26- 29 Sett. 2007
- Bevvino A. et al. "Influence of *Pseudomonas aeruginosa* on the growth rate and internalization of *Burkholderia cenocepacia*" 13th Italian Cystic Fibrosis Conference, Milan, 30 Nov. - 2 Dec. 2007, J. Cyst Fibrosis 2008; 7, suppl. 3: S16
- Pirone L. et al. "Influence of *Pseudomonas aeruginosa* on biofilm formation and internalization of *Burkholderia cenocepacia* strains" Florence conference on Phenotype MicroArray Analysis of Microorganism - The Environment, Agriculture and Human Health" Polo Scientifico di Sesto Fiorentino, Firenze, 19-21 marzo 2008
- Paroni M. et al. "Pathogenicity of environmental *Burkholderia cenocepacia* strains" International Burkholderia cepacia Working group, Ca' Tron di Roncade, Treviso, Italy, 14-17 aprile 2008
- Paroni M. et al. "Pathogenicity of environmental *Burkholderia cenocepacia* strains" Poster + Oral communication: 10° Convegno FISV - Federazione italiana scienze della vita, Riva del Garda (Trento), 24-27 settembre 2009
- Pirone L. et al. "Dual-species biofilm formation and cell invasion of *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cenocepacia*" 10° Convegno FISV - Federazione italiana scienze della vita, Riva del Garda (Trento), 24-27 settembre 2009
- FFC Project#8/2006 **"A genome-wide approach to the identification of novel targets for immuno-antibacterials in *Pseudomonas aeruginosa*"**

Alessandra Bragonzi (Istituto per il trattamento sperimentale della fibrosi cistica, Osp. S. Raffaele, Milano) Giovanni Bertoni (Dipart. Scienze Biomolecolari e Biotecnologie - Univ. Milano), Maria Scarselli (Centro Ricerche Chiron - Unità Bioinformatica - Siena)

Publications

- Vecchietti D. et al. "Analysis of *Pseudomonas aeruginosa* cell envelope proteome by capture of surface-exposed proteins on activated magnetic nanoparticles" PlosOne 2012 Nov 7(11):e51062

Abstracts

- Bragonzi A. et al. "Pseudomonas aeruginosa pathogenicity within clonal strains from patients with cystic fibrosis" 13th Italian Cystic Fibrosis Conference, Milan, 30 Nov. - 2 Dec. 2007, J. Cyst Fibrosis 2008; 7, suppl. 3: S17
- Leone M. et al. "Chemical and biological characterization of lipopolysaccharide and peptidoglycan of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from a patient at different stages of cystic fibrosis" Pediatric pulmonology, Suppl. 31, 2008. 22nd Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, 22-25 October 2008, p. 265.
- Bragonzi A. et al. "Genetic adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* for the commitment to chronic lung infection" Pediatric pulmonology, Suppl. 31, 2008. 22nd Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, 22-25 October 2008, p. 342
- Bianconi I. et al. "Positive signature-tagged mutagenesis in *Pseudomonas aeruginosa*: tracking patho-adaptive mutations promoting airways chronic infection" PLoS Pathog. 2011 Feb 3;7(2):e1001270.
- Alcalá-Franco B. et al. "Antibiotic pressure compensates the biological cost associated with *Pseudomonas aeruginosa* hypermutable phenotypes in vitro and in a murine model of chronic airways infection" J Antimicrob Chemother. 2012 Apr;67(4):962-9. Epub 2012 Feb 1.
- Vecchietti D. et al. "Analysis of Cell Envelope Proteome of *Pseudomonas aeruginosa* by Capture of Surface-Exposed Proteins on Activated Magnetic Nanoparticles" Pediatric Pulmonology 47: 341. 2012 Cystic Fibrosis Conference

- FFC Project#9/2006 **"Counteracting *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation by inhibition of novel targets: regulation of the levels of the di-cyclic-GMP signal molecule"**

Paolo Landini (Università di Milano Dip.to Scienze Biomolecolari e Biotecnologie), Anna Bernardi (Università di Milano, Dip. Chimica Organica ed Industriale), Pierfausto Seneci (Università di Milano, Dip. Chimica Organica e Industriale)

Publications

- Antoniani D. et al. "Monitoring of diguanylate cyclase activity and of cyclic-di-GMP biosynthesis by whole-cell assays suitable for high-throughput screening of biofilm inhibitors" Appl Miocrobiol Biotechnol, August 2009, DOI 10.1007/s00253-009-2199-x, ahead of print.

- FFC Project#10/2006 **"The role of RND drug efflux transporters in the intrinsic antibiotic resistance of *Burkholderia cenocepacia*"**

Giovanna Riccardi (Università di Pavia Dip.to Genetica e Microbiologia), Miguel Valvano (Dept. of Microbiology and Immunology, University of Ontario, Canada)

Publications

- Buroni S. et al. "Assessment of three Resistance-Nodulation-Cell Division drug efflux transporters of *Burkholderia cenocepacia* in intrinsic antibiotic resistance" BMC Microbiology 2009, 9:200,

<http://www.biomedcentral.com/1471-2180/9/200>

Abstracts

- Buroni S. et al. "The role of RND drug efflux transporters in intrinsic antibiotic resistance of *Burkholderia cenocepacia*" 28th National Meeting Società Italiana di Microbiologia generale e Biotecnologie microbiche, Spoleto, June 11-13, 2009

- FFC Project#11/2006 **"A structure-function investigation of exopolysaccharides and lipopolysaccharides produced by clinical strains of the *Burkholderia cepacia* complex and of their interaction with antimicrobial peptides of the host innate immune system"**

Roberto Rizzo (Dipart. Biochimica, Biofisica e Chimica Macrocellulare - Univ. Trieste), Antonio Molinaro (Dipart. Chimica Organica e Biochimica - Univ. Napoli), Enrico Tonin (Dipart. Scienze Biomediche - Univ. Trieste)

Publications

- Herasimenka Y. et al. "Exopolysaccharides produced by *Inquilinus limosus*, a new pathogen of cystic fibrosis patients: novel structures with usual components" Carbohydrate Res. (2007); 342, 2404:2415
- De Soza A. et al. "Chemical and biological features of *Burkholderia cepacia* complex lipopolysaccharides" Innate Immunity (2008); 14(3); 127-144
- Herasimenka Y. et al. "Macromolecular properties of cepacian in water and dimethylsulphoxide" Carbohydr. Res. 343 (2008) 81-89
- Ieranò T. et al. "The structure and pro-inflammatory activity of the lipopolysaccharide from *Burkholderia multivorans* and the differences between clonal strains colonizing pre- and post-transplanted lungs" Glycobiology, 2008, 18: 871-881
- Cescutti P. "Bacterial capsular polysaccharides and exopolysaccharides" in "Microbial Glycobiology Structures, Relevance and Application" Eds. Moran A. P., Brennan P. J., Holst O., and von Itzstein M., Elsevier, 2009, 93-108
- Foschiatti M. et al. "Inhibition of cathelicidin activity by bacterial exopolysaccharides" Molecular Microbiology 72, 2009, 1137-1146
- Ieranò T. et al. "Structural and conformational behavior of the two lipopolysaccharide O-antigens produced by the cystic fibrosis pathogen *Burkholderia multivorans*" Chemistry European Journal, 2009, 15:7156:7166
- Kuttel M. et al. "Conformational properties of two exopolysaccharides produced by *Inquilinus limosus*, a cystic fibrosis lung pathogen" Carbohydr Res. 2012 Mar 1;350:40-8.

Abstracts

- Furlanis L. et al. "Determinazione dell'unità ripetitiva del cepaciano traslocata nello spazio periplasmico da una flippasi codificata dal gene bceQ" 37° Congresso Nazionale di Microbiologia, Torino 11 - 14 Ottobre 2009
- Rizzo R. et al. "Aggregation properties of cepacian. A model for biofilm formation" 15th European Carbohydrate Symposium - Vienna Luglio 19 - 24, 2009
- Cescutti P. et al. "Identification of the gene involved in the transfer of cepacian repeating unit to the periplasmic space. Determination of the biological repeating unit of cepacian" 15th European Carbohydrate Symposium - Vienna Luglio 19 - 24, 2009
- Rizzo R. et al. "Aggregation properties of cepacian. A model for biofilm formation" 13th Annual Meeting of the International *Burkholderia cepacia* working group, 2009, April 23-26 University of Toronto - Canada
- Cescutti P. "Determination of the biological repeating unit of cepacian translocated to the periplasmic space by a flippase coded by the bceQ gene" 13th Annual Meeting of the International *Burkholderia cepacia* working group, 2009, April 23-26 University of Toronto - Canada
- Molinaro A. "Analysis of endotoxin from *B. cepacia*" XI Convegno-Scuola sulla Chimica dei Carboidrati, Pontignano (Siena, Italy), June 22-26, 2008
- Silipo A. "Structure and pro-inflammatory activity of endotoxin from the *Burkholderia cepacia* complex" International *Burkholderia Cepacia* Working Group, Ca' Tron di Roncade (TV - Italy) April 14-17, 2008
- T. Ierano, "Analysis of endotoxins from *B. cepacia* complex" European CF Young Investigator Meeting, Lille (France), August 27 - 29, 2008
- T. Ierano, "Analysis of endotoxins from *B. cepacia* complex" Summer Course Glycosciences-10th European Training Course on Carbohydrates - Wageningen (The Netherlands), June 9-12, 2008
- Rizzo R. et al. "Structure and Functions of Exopolysaccharides Produced by *Inquilinus limosus*: A Pathogen of Cystic Fibrosis Patients" International carbohydrate symposium, Oslo (Norway), 27 July - 1 August 2008
- Furlanis L. et al. "L'esopolisaccaride batterico come fattore di patogenicità nelle infezioni respiratorie da *Burkholderia cepacia*" 36° Congresso Società italiana di Microbiologia, Roma (Italy) 12-15 ottobre 2008
- Cescutti P. et al. "Structure-function relationships in cepacian biofilm formation" 14th European Carbohydrate Symposium, Lubeck 3-7 September 2007

- Cescutti P. et al. "Structure-function relationships in cepacian biofilm formation" XVIII convegno dell'Associazione Italiana di Scienza e Tecnologia delle Macromolecole, Catania 16-20 September 2007
- Cescutti P. et al. "Exopolysaccharides as bacterial defence tools: the case of *Burkholderia cepacia* Complex" XIV European Meeting on Carbohydrates, Lubeck, September 3-7, 2007
- FFC Project#14/2006 **"Longitudinal study of *Pseudomonas aeruginosa* resistance: selection and evolution of resistance mechanisms in relation to antibiotic treatment in cystic fibrosis patients"**

Anna Silvia Neri (Dipart. Pediatria - Centro FC - Ospedale Meyer - Firenze), Gianmaria Rossolini (Dipart. Biologia Molecolare - Policlinico "Le Scotte" - Siena)

Abstracts

- Campana S. et al. "Pseudomonas aeruginosa e metallo beta-lattamasi in pazienti affetti da fibrosi cistica: prevalenza e persistenza nel tempo" XII Congresso Italiano della Fibrosi Cistica, Firenze 23-25 Nov. 2006
- Campana S. et al. "Persistence of metallo β -lactamase producing Pseudomonas aeruginosa in cystic fibrosis patients" 30th European CF Conference, Belek, Turkey; 13-16 June 2007
- Pollini S. et al. "Pseudomonas aeruginosa e metallo- β -lattamasi in pazienti con fibrosi cistica: prevalenza e persistenza" XXXVI Congresso Nazionale - Associazione Microbiologi Clinici Italiani, Rimini; 2-5 Ottobre 2007
- Mugnaioli C. et al. "Meccanismi di resistenza acquisita in *Pseudomonas Aeruginosa* da pazienti con fibrosi cistica cronicamente colonizzati" XXXVII AMCLI, 2008, Stresa (VB), 5-8 Ottobre; NACFC, 2008, Orlando (Florida, USA), 23-25 October
- Mugnaioli C. et al. "Evolution of acquired resistance mechanism in *Pseudomonas Aeruginosa* isolated from chronically-infected cystic fibrosis patients" XXXVII AMCLI, 2008, Stresa (VB), 5-8 Ottobre; NACFC, 2008, Orlando (Florida, USA), 23-25 October

- FFC Project#6/2007 **"Dissecting a surface target candidate for the rational design of novel antibacterial drugs against *Pseudomonas aeruginosa*"**

Francesco Bonomi (Dipartimento di Scienze Molecolari Agroalimentari, Università degli Studi di Milano), Giovanni Bertoni (Dipartimento di Scienze Biomolecolari e Biotecnologie, Università degli Studi di Milano)

Publications

- Milani A. et al. "Tgpa, a protein with a eukaryotic-like Transglutaminase domain, plays a critical role in the viability of *Pseudomonas aeruginosa*" PLoS One. 2012;7(11):e50323

Abstracts

- Milani A. et al. "Analysis of a novel membrane protein in the opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa*" Poster ed abstract: 28th National Meeting Società Italiana di Microbiologia generale e Biotecnologie microbiche, Spoleto, June 11-13, 2009.
- Milani A. et al. "Analysis of a novel membrane protein in the opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa*" Poster: 10th Convegno FISV - Federazione italiana scienze della vita, Riva del Garda (Trento), 24-27 settembre 2009.
- Iametti S. et al. "A fluorescence-based assay for bacterial transglutaminase activity" Poster: VII European Symposium of the Protein Society, Zurich (Switzerland), June 14-18, 2009.

- FFC Project#7/2007 **"*Stenotrophomonas maltophilia*, a multidrug resistant emergent pathogen associated to cystic fibrosis: a post-genomic approach to identify new immunological and therapeutical targets"**

Bianca Colonna (Dipart. Biologia Cellulare e dello Sviluppo - Lab. Microbiologia Molecolare - Univ. La Sapienza - Roma), Maurizio Sanguinetti (Ist. Microbiologia - Univ. Sacro Cuore - Roma), Mauro Nicoletti (Dipart. Scienze Sanità Pubbli. - Sez. Microbiologia - Univ. La Sapienza - Roma), Mariassunta Casalino (Dipart. Microbiologia - Univ. Roma 3)

Publications

- Di Bonaventura G. et al. "Molecular characterization of virulence determinants of *Stenotrophomonas maltophilia* strains isolated from patients affected by cystic fibrosis" Int. J. Immunopathol. Pharmacol., 2007, Vol. 20, n. 3, pp. 529-537.
- Roscetto E. et al. "PCR-based rapid genotyping of *Stenotrophomonas maltophilia* isolates", BMC Microbiol, 2008, 8:202 doi: 10.1186/1471-2180-8-202
- Rocco F. et al. "*Stenotrophomonas maltophilia* isolated from patients affected by cystic fibrosis: genotyping analysis and molecular characterisation of virulence determinants" Int. J. Med. Microbiol., 2009, Jun 30 (Ahead of print)
- Rocco F. et al. "Stenotrophomonas maltophilia genomes: a start-up comparison" Int. J. of Med. Microbiol. 299 (2009) 535-546
- Pompilio A. et al. "Adhesion to and biofilm formation on IB3-1 bronchial cells by *Stenotrophomonas maltophilia* isolates from cystic fibrosis patients" BMC Microbiology 2010, 10:102

- Di Bonaventura G. et al. "Role of Excessive Inflammatory Response to *Stenotrophomonas maltophilia* Lung Infection in DBA/2 Mice and Implications for Cystic Fibrosis" Infection and Immunity June 2010, Vol. 78, (6):2466-76
- Nicoletti M. et al. "Stenotrophomonas maltophilia strains from cystic fibrosis patients: genomic variability and molecular characterization of some virulence determinants" Int J of Med Microbiol 301 (2011):34-43
- De Carolis E. et al. "Analysis of heat-induced changes in protein expression of *Stenotrophomonas maltophilia* K279a reveals a role for GroEL in the host-temperature adaption" Int J Med Microbiol. 2011 Apr;301(4):273-81
- Pompilio A. et al. "Phenotypic and genotypic characterization of *Stenotrophomonas maltophilia* isolates from patients with cystic fibrosis: genome diversity, biofilm formation, and virulence" BMC Microbiol. 2011 Jul 5;11:159.

Abstracts

- Di Bonaventura G. et al. "Effetto di concentrazioni subinibitive di moxifloxacină su *Stenotrophomonas maltophilia* isolati da fibrosi cistica" 34th Congresso nazionale della Società Italiana di Microbiologia, Genova 15-18 ottobre 2006.
- Prosseda G. et al. "Virulence factors of *Stenotrophomonas maltophilia*, an emergent pathogen associated to cystic fibrosis" 9th Convegno Nazionale FISV, Riva del Garda (TN), 26- 29 Sett. 2007
- Casalino M. et al. "Molecular characterization of *Stenotrophomonas maltophilia* isolated from cystic fibrosis patients" 9th Convegno Nazionale FISV, Riva del Garda (TN), 26- 29 Sett. 2007
- Di Bonaventura G. et al. "Interazione in vitro tra *Stenotrophomonas maltophilia* e cellule epiteliali bronchiali IB3-1: implicazioni in fibrosi cistica" 35th Congresso nazionale della Società Italiana di Microbiologia, Catania 30 settembre - 3 ottobre 2007
- Ficarelli E. et al. "Stenotrophomonas maltophilia isolated from patients affected by cystic fibrosis: genotyping analysis and molecular characterisation of virulence determinants" 18th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Barcelona, 19-22 April 2008
- Di Bonaventura G. et al. "Adhesion to and biofilm formation on IB3-1 bronchial cells by Stenotrophomonas maltophilia: implications in cystic fibrosis" 18th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Barcelona, 19-22 April 2008
- Ficarelli E. et al. "Caratterizzazione molecolare di ceppi di *Stenotrophomonas maltophilia* isolati da pazienti con fibrosi cistica" 36th Congresso nazionale della Società Italiana di Microbiologia, Roma 12-15 ottobre 2008.
- Di Bonaventura G. et al. "Caratterizzazione fenotipica e genotipica della formazione di biofilm da parte di *Stenotrophomonas maltophilia* isolati da pazienti con fibrosi cistica" 36th Congresso nazionale della Società Italiana di Microbiologia, Roma 12-15 ottobre 2008.
- Di Bonaventura G. et al. "Patogenesi microbica in fibrosi cistica: clearance di *Stenotrophomonas maltophilia* ed infiammazione in un modello murino di infezione polmonare" 36th Congresso nazionale della Società Italiana di Microbiologia, Roma 12-15 ottobre 2008.
- Michelacci V. et al. "Identification of genes expressed at the host temperature in *S. maltophilia*, an emergent pathogen in CF patients" 7th Louis Pasteur Conference on Infectious Disease, 11-13 Novembre 2008, Paris, France.
- Cipresso R. et al. "Epidemiology of health care-associated *Stenotrophomonas maltophilia* infections in CF and ICU patients: role of biofilm formation. Clinical Microbiology and Infection" 2009; 15(s4):S401. Proceedings of the 19th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID), Helsinki, Finland.
- Iacobino A. et al. "Analysis of *Stenotrophomonas maltophilia* virulence factors" SIMGBM 11-13 giugno 2009, Spoleto.
- Barchitta M. et al. "Ruolo epidemiologico del biofilm in isolati di *Stenotrophomonas maltophilia* da pazienti con fibrosi cistica e da pazienti ricoverati in unità di terapia intensiva" XIth Conferenza Nazionale di Sanità Pubblica, Napoli 2009
- Iacobino A. et al. "Virulence factors of *Stenotrophomonas maltophilia*: an opportunistic pathogen" FISV2009 11th Annual Congress Riva del Garda, 23-25 Sept.2009.
- Ciavardelli D. et al. "Alterazione dei livelli tessutali di ioni metallici in un modello murino di infezione polmonare da *Stenotrophomonas maltophilia*" XXXVII Congresso Nazionale della Società Italiana di Microbiologia, Torino 11-14 Ottobre 2009.
- Picciani C. et al. "Analisi proteomica del biofilm formato da un ceppo di *Stenotrophomonas maltophilia* isolato da fibrosi cistica" XXXVII Congresso Nazionale della Società Italiana di Microbiologia, Torino 11-14 Ottobre 2009.
- Nicoletti M. et al. "Analisi genotipica e caratterizzazione molecolare di determinanti di virulenza espressi da ceppi di *Stenotrophomonas maltophilia* isolati da pazienti affetti da fibrosi cistica" XXXVII Congresso Nazionale della Società Italiana di Microbiologia, Torino 11-14 Ottobre 2009.
- De Carolis E. et al. "Caratterizzazione e analisi molecolare dell'e-

spressione dell'operone groESL di *Stenotrophomonas maltophilia*" XXXVII Congresso Nazionale della Società Italiana di Microbiologia, Torino 11-14 Ottobre 2009.

• FFC Project#9/2007 "Burkholderia cepacia complex: closing down on the major virulence factors"

Vittorio Venturi (ICGB Trieste)

Publications

- Rampioni G. et al. "RsaL provides quorum sensing homeostasis and functions as a global regulator of gene expression in *Pseudomonas aeruginosa*" Molec. Microbil. (2007) 66 (6), 1557-1565
- Licciardello G. et al. "Pseudomonas corrugata contains a conserved N-acyl homoserine lactone quorum sensing system; its role in tomato pathogenicity and tobacco hypersensitivity response" FEMS Microbiol Ecol 61 (2007) 222-234
- Steindler L. et al. "The presence, type and role of N-acyl homoserine lactone quorum sensing in fluorescent *Pseudomonas* originally isolated from rice rhizospheres are unpredictable" FEMS Microbiol. Lett. 288 (2008) 102-111
- Steindler L. et al. "LasI/R and RhlI/R Quorum Sensing in a strain of *Pseudomonas aeruginosa* beneficial to plants" Appl. Environ. Microbiol., August 2009, p. 5131-5140.
- Netotea S. et al. "A simple model for the early events of quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*: modeling bacterial swarming as the movement of an "activation zone" Biology direct 2009, 4:6, <http://www.biology-direct.com/content/4/1/6>

• FFC Project#8/2007 "The structure and immunological activity of lipopolysaccharide and peptidoglycan of *Ps aeruginosa* before and after the onset of chronic infection"

Antonio Molinaro (Dip. di Chimica Organica e Bioch. - Univ. di Napoli Federico II, Complesso Universitario Monte Sant'Angelo, Napoli), Maria Lina Bernardini (Dip. Biol. Cell. - Univ. La Sapienza, Roma)

Publications

- Cigana C. et al. "Pseudomonas aeruginosa Exploits Lipid A and Muropeptides Modification as a Strategy to Lower Innate Immunity during Cystic Fibrosis Lung Infection" PLoS ONE, December 2009, Vol. 4, Issue 12, e8439
- FFC Project#10/2007 "Iron uptake and quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* virulence"
- Paolo Visca (Dip. Biologia - Lab. Microbiologia Clinica e Virologia - Univ. Roma 3), Livia Leoni (Dip. Biologia - Lab. Microbiologia Molecolare e Biotecnologie dei Microorganismi - Univ. Roma 3)

Publications

- Gaines J. M. et al. "Regulation of the *Pseudomonas aeruginosa* *toxA*, *regA* and *ptxR* genes by the iron-starvation sigma factor *PvdS* under reduced levels of oxygen" Microbiology (2007) Vol 153: 4219-33
- Tiburzi F. et al. "Intracellular levels and activity of *PvdS*, the major iron starvation sigma factor of *Pseudomonas aeruginosa*" Mol. Microbiol. (2008) Vol. 67: 213-227
- Rampioni G. et al. "RsaL provides quorum sensing homeostasis and functions as a global regulator of gene expression in *Pseudomonas aeruginosa*" Mol. Microbiol. (2007) Vol. 66: 1557-1565
- Imperi F. et al. "Membrane-association determinants of the -amino acid monooxygenase *PvdA*, a pyoverdine biosynthetic enzyme from *Pseudomonas aeruginosa*" Microbiology, 2008 Sept., 154(Pt 9):2804-13
- Tiburzi F. et al. "Is the host heme incorporated in microbial heme-proteins?" IUBMB Life, 61(1):80-83 January 2009
- Imperi F. et al. "Analysis of the periplasmic proteome of *Pseudomonas aeruginosa*, a metabolically versatile opportunistic pathogen" Proteomics 2009, 9, 1901-1915
- Imperi F. et al. "Transcriptional control of the *pvdS* iron starvation sigma factor gene by the masterregulator of sulphur metabolism *CysB* in *Pseudomonas aeruginosa*" Envir. Microbiol. (2010) Vol. 12(6): 1630-1642
- Imperi F. et al. "Molecular basis of pyoverdine siderophore recycling in *Pseudomonas aeruginosa*" Proc Natl Acad Sci U S A. 2009 Dec 1;106(48):20440-5

Abstracts

- Rampioni G. et al. "RsaL is a global regulator controlling quorum sensing homeostasis and virulence in *Pseudomonas aeruginosa*" ASM Conference Pseudomonas 2007, Seattle, Washington, 26-30 August 2007, pp. 15-16.
- Rampioni G. et al. "RsaL, a quorum sensing homeostatic effector controlling virulence and biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*" 9° Convegno Nazionale FISV, Riva del Garda (TN), 26-29 Sett. 2007
- Rampioni G. et al. "RsaL is a global regulator controlling quorum sensing homeostasis and virulence in *Pseudomonas aeruginosa*" ASM Conference Cell-Cell Communication in Bacteria, Austin, Texas, 7-10 October 2007, p. 41
- Tiburzi F. et al "A new regulator involved in the control of pyoverdine synthesis in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1: the role of the LysR-

type transcriptional regulator *CysB*" 28th National Meeting Società Italiana di Microbiologia generale e Biotecnologie microbiche, Spoleto, June 11-13, 2009.

• FFC Project#6/2008 "Design of non-conventional antibiotics against cystic fibrosis-related pathogens"

Giovanni Bertoni(Dipartimento di Scienze Biomolecolari e Biotecnologie, Università degli Studi di Milano), Stefano Maiorana (Dip. Chimica Organica e Industriale, Università degli Studi di Milano)

Degree thesis

- Luca Sorrentino "Disegno ed utilizzo di oligomeri antisenso nel batterio patogeno opportunista *Pseudomonas aeruginosa*" Università degli Studi di Milano - A.A. 2009-2010

• FFC Project#7/2008 "Burkholderia cenocepacia pathogenicity: synergistic interactions with *Pseudomonas aeruginosa* and adaptation to CF host"

Annamaria Bevvino (ENEA C.R. Casaccia - Biotecn. Agroindustriale e Protezione della Salute), Fiorentina Ascenzioni (Dip. Biologia Cellulare e dello Sviluppo - Univ. La Sapienza)

Publications

- Bevvino A. et al. "Interaction of environmental *Burkholderia cenocepacia* strains with cystic fibrosis and non-cystic fibrosis bronchial epithelial cells *in vitro*" Microbiology. 2012 May;158(Pt 5):1325-33

Abstracts

- Pirone L. et al. "Interactions between *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cenocepacia* strains in biofilm and in a mouse model of chronic infection" Eurobiofilms, Rome, 2-5 September 2009
- Paroni M. et al. "Interactions between *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cenocepacia* strains in biofilm and in a mouse model of chronic infection" Poster + oral communication: XV Congresso Italiano della Fibrosi Cistica - V Congresso SIFC, 1-4 ottobre 2009, Soverato, Squillace, (CZ)
- Paroni M. et al. "Pseudomonas aeruginosa and Burkholderia cenocepacia polymicrobial interactions in biofilm and murine model of chronic infection" XXVIII Convegno nazionale SIMGBM, Società Italiana di Microbiologia generale e Biotecnologie microbiche, Spoleto, 11/13 Giugno 2009
- Paroni M. et al. "Pseudomonas aeruginosa and Burkholderia cenocepacia polymicrobial interactions in biofilm and murine model of chronic infection" 23rd Annual North American Cystic Fibrosis Congress, Minneapolis, Minnesota, 15-17 October 2009.
- Farulla I et al "Clinical and environmental *Pseudomonas aeruginosa* and Burkholderia cenocepacia strains: dual-species interactions in biofilm and in a mouse model of chronic infection" Environmental Microbiology Meeting (BMMA) 2010, 21-22 May, Bertinoro (FC), Italy
- Paroni M et al "Pseudomonas aeruginosa and Burkholderia cenocepacia polymicrobial interactions in biofilm and in a murine model of chronic infection" Pseudomonas 2010, Pseudomonas in the Test Tube and in the Environment, 28-29 January 2010, Milan, Italy
- Bevvino A. et al. "Environmental *Burkholderia cenocepacia* strains can disrupt epithelial integrity in bronchial epithelial cells *in vitro* and have a more profound effect on ZO-1 in CF cells" 35th European Cystic Fibrosis Conference (ECFS 2012), Dublin, June 6-9, 2012.

• FFC Project#8/2008 "Development and validation of a novel screening system for the identification of *Pseudomonas aeruginosa* virulence inhibitor"

Livia Leoni (Lab. Microbiologia molecolare e Biotecnologie dei microrganismi, Dip. Biologia, Università "Roma 3"), Paolo Visca (Lab. Microbiologia clinica e Virologia, Dip. Biologia, Università "Roma Tre")

Publications

- Rampioni G. et al. "Contribution of the RsaL global regulator to *Pseudomonas aeruginosa* virulence and biofilm formation" FEMS Microbiol Lett 301 (2009): 210-217
- Imperi F et al "Molecular basis of pyoverdine siderophore recycling in *Pseudomonas aeruginosa*" Proc Natl Acad Sci U S A. 2009. 48:20440-5
- Imperi F et al "Transcriptional control of the *pvdS* iron starvation sigma factor gene by the master regulator of sulfur metabolism *CysB* in *Pseudomonas aeruginosa*" Environ Microbiol. 2010. 6:1630-42
- Massai F. et al "A multitask biosensor for micro-volumetric detection of N-3-oxo-dodecanoyl-homoserin lactone quorum sensing signal" Biosens Bioelectron. 2011 Apr 15;26(8):3444-9

Abstracts

- Rampioni G. et al. "Role of the RsaL quorum sensing regulator in *Pseudomonas aeruginosa* pathogenic potential" 28th National Meeting Società Italiana di Microbiologia generale e Biotecnologie microbiche, Spoleto, June 11-13, 2009
- Rampioni G. et al. "Role of the RsaL quorum sensing regulator in *Pseudomonas aeruginosa* pathogenic potential" Pseudomonas XII Conference, August 3-17 2009, Hannover, Germany
- Rampioni G. et al. "The RsaL quorum sensing regulator controls

- surface motility and biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*" Eurobiofilms, Rome, 2-5 September 2009
- Longo F. et al. "Picking up *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing regulators" 28th National Meeting Società Italiana di Microbiologia generale e Biotecnologie microbiche, Spoleto, June 11-13, 2009
 - Massai F. et al. "Development and validation of screening systems for the identification of *Pseudomonas aeruginosa* virulence inhibitors" 28th National Meeting Società Italiana di Microbiologia generale e Biotecnologie microbiche, Spoleto, June 11-13, 2009
 - FFC Project#9/2008 **"Longitudinal study of *Pseudomonas aeruginosa* resistance: selection and evolution of resistance mechanisms in relation to antibiotic treatment in cystic fibrosis patients"**
Anna Silvia Neri (Centro Reg. FC - Dip. Pediatria - Ospedale Meyer Firenze), Gian Maria Rossolini (Dip. Biologia Molecolare - Università di Siena, Policlinico S. Maria alle Scotte)
- Abstracts**
- Cocchi P. et al. "Molecular characterization of MRSA involved in persistent lung infections in cystic fibrosis patients: emergence of epidemic clones" J Cyst Fibros 2010; 9: S33
 - Cocchi P. et al. "Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains responsible for the first infection in cystic fibrosis" J Cyst Fibros 2010; 9:S34
 - FFC Project#10/2008 **"Essential proteins of *Pseudomonas aeruginosa* other membrane biogenesis as novel targets for new antimicrobial drugs design and synthesis"**
Alessandra Polissi (Dipartimento Biotecnologie e Bioscienze - Università Bicocca Milano), Gianni Dehò (Dipartimento Scienze Biomolecolari e Biotecnologie - Università di Milano), Cristina De Castro (Dipartimento di Chimica e Biochimica Organica - Università di Napoli "Federico II"), Martino Bolognesi (Dipartimento Scienze Biomolecolari e Biotecnologie - Università di Milano), Laura Cipolla (Dipartimento Biotecnologie e Bioscienze - Università Bicocca Milano), Luca De Gioia (Dipartimento Biotecnologie e Bioscienze - Università Bicocca Milano)
- Publications**
- Sommaruga S. et al. "Structure prediction and functional analysis of KdsD, an enzyme involved in lipopolysaccharide biosynthesis" Biochemical and Biophysical Research Communication, 388 (2009) 222-227
 - Airoldi C. et al. "Targeting Bacterial Membranes: Identification of *Pseudomonas aeruginosa* d-Arabinose-5P Isomerase and NMR Characterisation of its Substrate Recognition and Binding Properties" ChemBioChem DOI: 10.1002/cbic.201000754
- Abstracts**
- Airoldi C. et al. "D-arabinose-5-phosphate isomerase: NMR characterisation of natural substrates recognition and binding requirements" Biotech.org - Chimica Organica e Biotecnologie: Sfide e Opportunità, May 20-23, 2009, Forte dei marmi (Lucca)
 - Sommaruga S. et al. "3D structure by homology modeling of the *Escherichia coli* KdsD, an enzyme involved in lipopolysaccharide biosynthesis" FISV 2008 10th Annual Congress (Riva del Garda - TN, 24-27 Settembre 2008)
 - Airoldi C. et al. "NMR as tool for the characterization of carbohydrate processing enzymes: the example of *E. coli* arabinose 5-phosphate isomerase (API)" XI Convegno-Scuola sulla Chimica dei Carboidrati, 22-26 Settembre 2008, Pontignano (Siena)
 - Sommaruga S. et al. "Structural and biochemical characterization of KdsD, an enzyme involved in lipopolysaccharide biosynthesis" XXVIII Convegno nazionale SIMGBM, Società Italiana di Microbiologia generale e Biotecnologie microbiche, Spoleto, 11/13 Giugno 2009
 - Sperandeo P. et al. "Biogenesis of lipopolysaccharide, an immunomodulatory molecule of the outer membrane of Gram-negative bacteria" XXVIII Convegno nazionale SIMGBM, Società Italiana di Microbiologia generale e Biotecnologie microbiche, Spoleto, 11/13 Giugno 2009
 - Polissi A. "Biogenesis of outer membrane of Gram-negative bacteria: new genes implicated in Lipopolysaccharide transport to the cell surface" Meeting on: Cellular Lipid Transport Processes and their Role in Human Disease, October 22-26, 2008 Canmore (Alberta, Canada)
 - FFC Project#10/2009 **"Validation of novel vaccine candidates of *Pseudomonas aeruginosa*"**
Alessandra Bragonzi (Unità di Infezione e fibosi cistica - Divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie infettive - Istituto San Raffaele - Milano), Giovanni Bertoni (Dipartimento di Scienze Biomolecolari e Biotecnologie, Università degli studi di Milano)
- Abstracts**
- Bianconi I. et al. "Genome sequence and functional comparative genomics of *P. aeruginosa* RP73: defining host-bacterial interactions in a persistent lifestyle" NACFC 2012, Orlando, Florida, USA
 - FFC Project#11/2009 **"Community-acquired MRSA and hospital-acquired MRSA in cystic fibrosis patients: a multicentre study**
- regarding antibiotic susceptibility, epidemiology, natural history and clinical relevance"**
- Silvia Campana (Dipart. Pediatria - Centro Fibrosi Cistica - Ospedale Meyer - Firenze)
- Abstracts**
- Cocchi P et al "Molecular characterization of MRSA involved in persistent lung infections in cystic fibrosis patients: emergence of epidemic clones" XXXIII ECFS Conference, Valencia, Spain 2010
 - Cocchi P et al "Diffusion of MRSA strains in the Italian CF population: a multicenter study" XXIV NACFC Conference Baltimore 2010
 - Cocchi P. et al. "Genetic background of MRSA collected from cystic fibrosis (CF) patients versus MRSA collected from intensive care unit (ICU) patients: does any difference exist?" NACF 2012, Orlando, Florida, USA
 - Galici V. et al. "Clinical impact of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in cystic fibrosis patients: a longitudinal multicenter Italian study" NACFC 2013, Salt Lake City, Utah, USA
 - Dolce D. et all. "Infezione persistente da MRSA (Stafilococco Aureo Multiresistente) e funzionalità polmonare: studio longitudinale multicentrico" 39th European Cystic Fibrosis Conference 8 - 11 June 2016, Basel, Switzerland
 - FFC Project#12/2009 **"Novel strategies for respiratory infection therapy in CF. Use of natural and designed antibacterial peptides"**
Renato Gennaro (Dipart. Scienze della Vita, Università di Trieste), Giovanni Di Bonaventura (Dip. Scienze Biomediche - Univ. "G. D'Annunzio" Pescara), Ersilia Fiscarelli (Osp. Pediatrico "Bambini Gesù", Roma)
- Publications**
- Pompilio A. et al. "Antibacterial and anti-biofilm effects of cathelicidin peptides against pathogens isolated from cystic fibrosis patients" Peptides. 2011 Sep;32(9):1807-14. Epub 2011 Aug 7.
 - Pompilio A. et al. "Potential novel therapeutic strategies in cystic fibrosis: antimicrobial and anti-biofilm activity of natural and designed α -helical peptides against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Stenotrophomonas maltophilia*" BMC Microbiol. 2012 Jul 23;12:145
- Abstracts**
- Di Bonaventura G. et al. "Attività antibatterica ed anti-biofilm di bmap-27 e bmap-28 verso ceppi multiresistenti isolati da pazienti affetti da fibrosi cistica" VI Congresso Nazionale della Società Italiana per lo studio della Fibrosi Cistica; Rimini, 18-21 novembre 2010
 - Di Bonaventura G. et al. "*In vitro* bactericidal and anti-biofilm activity of bovine myeloid antimicrobial peptides against multidrug-resistant bacteria from patients with cystic fibrosis" poster at 21 st ECCMID - 27th ICC, Milan, Italy 7-10 May 2011
 - Pompilio A. et al. "Attività antibatterica ed anti-biofilm del peptide P19(9/B) verso isolati multi resistenti da pazienti affetti da fibrosi cistica" XXXIX Congresso Nazionale della Società Italiana di Microbiologia, Riccione, 3-6 ottobre 2011
 - FFC Project#13/2009 **"Prevention of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation by inhibition of cyclic-di-GMP (c-di-GMP) metabolism"**
Paolo Landini (Dipartimento Scienze Biomolecolari e Biotecnologia - Università degli Studi di Milano), Pierfausto Seneci (Dipartimento Chimica organica e industriale - Università degli Studi di Milano), Anna Bernardi (Dipartimento Chimica organica e industriale - Università degli Studi di Milano), Francesca Cutruzzolà (Dipart. Scienze Biochimiche - Università "La Sapienza" Roma)
- Publications**
- Antoniani D. et al. "Discovery of novel inhibitors of bacterial biofilm formation targeting enzymes involved in the metabolism of the second messenger cyclicdi-GMP" 2010, Special Abstracts / Journal of Biotechnology 150S-S101 (Published Meeting Abstract).
 - Stelitano V. et al. "Structure and function of representative HD-GYP proteins controlling biofilm formation" Manuscript in preparation
 - Antoniani D. et al. "The immunosuppressive drug azathioprine inhibits biosynthesis of the bacterial signal molecule cyclic-di-GMP by interfering with intracellular nucleotide pool availability" Appl Microbiol Biotechnol. 2013 Aug; 97(16):7325-36
 - Giardina G. et al. "Investigating the allosteric regulation of YfiN from *Pseudomonas aeruginosa*: clues from the structure of the catalytic domain" PLoS One. 2013 Nov 22;8(11):e81324
- Abstracts**
- Antoniani D. et al. "Inhibition of metabolism of the signal molecule cyclic-di-GMP affects biofilm formation in *Escherichia coli*", Cortona, Procarioti 2010, 14-15 April 2010, Cortona (AR) (oral presentation)
 - Antoniani D. et al. "Discovery of novel inhibitors of bacterial biofilm formation targeting enzymes involved in the metabolism of the second messenger cyclicdi- GMP" 14th International Biotechnology Symposium and Exhibition, 14-18 September 2010, Rimini (oral presentation)
 - Stelitano V. et al. "Characterization of proteins from *Pseudomonas*

- *aeruginosa* involved in c-di-GMP turnover" 36th FEBS Congress "Biochemistry for Tomorrow's Medicine" Torino, 25-30 June 2011 (oral presentation)
- Stelitano V. et al. "In vitro characterization of the two HD-GYP phosphodiesterases from *Pseudomonas aeruginosa* involved in c-di-GMP-dependent biofilm formation" EMBO Meeting 2011, Vienna (Austria) 10-13 September 2011 (poster presentation)
- Stelitano V. et al. "In vitro characterization of the two HD-GYP phosphodiesterases from *Pseudomonas aeruginosa* involved in c-di-GMP-dependent biofilm formation" 29° SIMGBM meeting 20-23 September 2011, Pisa (poster presentation)
- Rinaldo S. et al. "Inhibition of bacterial biofilms: new molecular strategies targeting diguanylate cyclase" 29° SIMGBM meeting 20-23 September 2011, Pisa (poster presentation)

- FFC Project#14/2009 **"In vivo characterization of a novel branched antimicrobial peptide specific for Gram-negative bacteria. Efficacy in *P. aeruginosa* lung infection and pharmacological profile"** Alessandro Pini (Dipart. di Biologia Molecolare, Sezione di Chimica Biologica, Università di Siena)

Publications

- Pini A. et al. "A novel tetrabranched antimicrobial peptide that neutralizes bacterial lipopolysaccharide and prevents septic shock *in vivo*" The FASEB J. 2010 24:1015-22
- Pini A. et al. "Efficacy and toxicity of the antimicrobial peptide M33 produced with different counter-ions" Amino Acids. 2012 Jul;43(1):467-73

Abstracts

- Pini A. et al. "A novel tetrabranched antimicrobial peptide that neutralizes bacterial lipopolysaccharide and prevents septic shock *in vivo*" Gordon Research Conference on Chemistry and Biology of Peptides February 28-March5 2010, Ventura, CA, USA
- Pini A. et al. "A novel tetrabranched antimicrobial peptide that neutralizes bacterial lipopolysaccharide and prevents septic shock *in vivo*" 12th Naples Workshop on bioactive peptides-2nd Italy-Korea Symposium on antimicrobial peptides. 4-7 June 2010, Naples, Italy
- Pini A. et al. "A novel tetrabranched antimicrobial peptide that neutralizes bacterial lipopolysaccharide and prevents septic shock *in vivo*" 31st European Peptide Symposium, 5-7 September 2010, Copenhagen, DK

- FFC Project#15/2009 **"The role of RND transporters in *Burkholderia cenocepacia* life by microarray analysis"**

Giovanna Riccardi (Dipart. Genetica e microbiologia - Università degli Studi di Pavia)

Publications

- Perrin E. et al. "Exploring the HME and HAE1 efflux systems in the genus *Burkholderia*" BMC Evolutionary Biol (2010), 10:164
- Coenye T. et al., "Molecular mechanisms of chlorhexidine tolerance in *Burkholderia cenocepacia* biofilms" Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 55: 1912-1919
- Bazzini S. et al. "Deciphering the role of RND efflux transporters in *Burkholderia cenocepacia*" PLoS One. 2011 Apr 19;6(4):e18902
- Pasca M. et al. "Evaluation of fluoroquinolone resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* MDR clinical isolates" Microbial Drug Resistance, 2012 Feb;18(1):23-32. Epub 2011 Jul 28
- Bazzini S. et al. "Molecular approaches to pathogenesis study of *Burkholderia cenocepacia*, an important cystic fibrosis opportunistic bacterium" Appl Microbiol Biotechnol. 2011 Dec;92(5):887-95. Epub 2011 Oct 14

Abstracts

- Perrin E. et al., "Exploring the HME and HAE1 efflux systems in the genus *Burkholderia*" Cortona, Procarioti 2010, Cortona (AR), 14-15 Aprile 2010
- Perrin E. et al., "Evolution of the HME and HAE1 efflux systems in the genus *Burkholderia*" Convegno SIBE, Milano, 2-4 Settembre 2010
- Fani R. et al., "Genomic, transcriptomic, and phenomic analysis of *Burkholderia cepacia* mutants impaired in HAE efflux pumps" 2nd Florence Conference on Phenotype MicroArray Analysis of Microorganisms, Firenze, 13-15 Settembre 2010
- Pasca MR. et al., "Pompe di efflusso e farmacoresistenza di stipti di *Pseudomonas aeruginosa* isolati presso la fondazione IRCCS S. Matteo di Pavia" XXXIX Congresso Nazionale AMCLI, Rimini, 20-22 Ottobre 2010
- Bazzini S. et al., "Deciphering the role of RND efflux transporters in *Burkholderia cenocepacia*" Convegno Congiunto DGM-CNR, Pavia, 22-23 Febbraio 2011
- Buroni S. et al., "The role of RND efflux transporters in *Burkholderia cenocepacia* life" International Burkholderia cepacia Working Group-15th Annual Meeting, Praga (Repubblica Ceca), 13-16 Aprile 2011.
- Bazzini S. et al., "Deciphering the role of RND efflux transporters in *Burkholderia cenocepacia*" I discepoli di Adriano Buzzati-Traverso: la Genetica Molecolare tra Università e CNR, Pavia, 24 Maggio 2011

- Buroni S. et al., "Deciphering the role of RND efflux transporters in *Burkholderia cenocepacia*" FEMS 2011, 4th Congress of European Microbiologists, Geneva (Switzerland), 26-30 Giugno 2011.
- Bazzini S. et al., "New insight into *Burkholderia cenocepacia* RND efflux systems" SIMGBM 29th Annual Meeting, Pisa, 21-23 Settembre 2011.
- Perrin E. et al., "In silico analysis of RND superfamily in the *Burkholderia* genus" SIMGBM 29th Annual Meeting, Pisa, 21-23 Settembre 2011.
- Papaleo M.C. et al., "Analyzing the role of RND efflux transporters in *Burkholderia cenocepacia*: a proteomic analysis" SIMGBM 29th Annual Meeting, Pisa, 21-23 Settembre 2011.
- Bazzini S. et al., "Two different approaches to fight *Burkholderia cenocepacia* infections" FISV 2012, 12th Congress, Università La Sapienza, Roma

- FFC Project#16/2009 **"In vitro and in vivo studies of novel antimicrobials targeting bacterial cytoskeleton and cell surface virulence markers in the treatment of *Burkholderia cepacia* complex infection"**

Alba Silipo (Dipartimento di Chimica Organica e Biochimica - Università degli Studi "Federico II" - Napoli), Anthony De Soya (Dipartimento di Medicina Respiratoria, Freeman Hospital - Gruppo di Immunobiologia Applicata e Trapianti, Istituto di Medicina cellulare - The Medical School University of Newcastle)

Publications

- Nicholson A. et al. "In vitro activity of S-(3,4-dichlorobenzyl)isothiourea hydrochloride and novel structurally related compounds against multi-drug resistant bacteria including *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia* complex" Int J Antimicrob Agents. 2012 Jan;39(1):27-32. Epub 2011 Oct 10.

Abstracts

- Carnell S. et al., "The bacterial cytoskeleton-A new antimicrobial target in cystic fibrosis pathogens?" In: Thorax: British Thoracic Society Winter Meeting, 2010, Westminster, UK: BMJ Group
- Carnell S. et al., "The bacterial cytoskeleton - a new antimicrobial target in cystic fibrosis pathogens?" International *Burkholderia cepacia* Working Group Annual Meeting, Prague, April 2011
- Carnell S. et al. "The bacterial cytoskeleton-complexities with a new antimicrobial target in cystic fibrosis pathogens"- British Association for Lung Research conference, Newcastle-upon-Tyne, July 2011

- FFC Project#9/2010 **"Pathogenicity of *Staphylococcus aureus* and its role in the progression of *Pseudomonas aeruginosa* chronic lung infection"**

Daniela Maria Cirillo (Emerging Bacterial Pathogens Unit, Div. of Immunology, Transplantation and Infectious Disease, Scientific Institute H. S. Raffaele, Milano), Alessandra Bragonzi (Infections and Cystic Fibrosis Unit, Division of Immunology, Transplantation and Infectious Disease, H. S. Raffaele, Milano), Barbara Kahl (UniversitätsKlinikum Münster, Institute für Medizinische Mikrobiologie, Münster)

Publications

- Baldan R. et al. "Factors contributing to epidemic MRSA clones replacement in a hospital setting" PLoS One. 2012;7(8):e43153.
- Montuschi P. et al. "Letter to Editor- Nuclear Magnetic Resonance-based Metabolomics Discriminates Primary Ciliary Dyskinesia from Cystic Fibrosis" American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine Vol 190 No 2
- Montuschi P. et al. "Nuclear magnetic resonance-based metabolomics discriminates primary ciliary dyskinesia from cystic fibrosis" Am J Respir Crit Care Med. 2014 Jul 15;190(2):229-33
- Baldan R. et al. "Adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* in Cystic Fibrosis airways influences virulence of *Staphylococcus aureus* in vitro and murine models of co-infection" PLoS One. 2014 Mar 6;9(3):e89614

Abstracts

- Cigana C, Bianconi I, De Simone M et all. "Modeling chronic lung infection by *staphylococcus aureus* to track its role in the progression of *Pseudomonas aeruginosa* chronic respiratory disease" The 30th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, October 27-29, 2016

- FFC Project#10/2010 **"Exploring thermostable quorum quenching lactonases to counteract bacterial infections in cystic fibrosis"** Giuseppe Manco (Istituto di Biochimica delle Proteine CNR, Napoli); Davide Andrenacci (Istituto di Genetica e Biofisica CNR, Napoli)

Publications

- Porzio E. et al. "Mn²⁺ modulates the kinetic properties of an archaeal member of the PLL family" Chem Bio Int, submitted (2012)
- Mandrich L. et al. "Exploring thermostable quorum quenching lactonases to counteract bacterial infections in cystic fibrosis" in Science and Technology against microbial pathogens. Research, Development and Evaluation, pp. 150-154 (2011)
- Mandrich L. et al. "Fighting microbial infections: a lesson from skin-derived esculentin-1-peptidesAn Engineered Version of Human

PON2 Opens the Way to Understand the Role of Its Post-Translational Modifications in Modulating Catalytic Activity" PLoS ONE 2015 Dec 10;10(12):e0144579. doi: 10.1371

Abstracts

- Porzio E. et al., "Exploring thermostable quorum quenching lactonases as a tool to interfere with *Pseudomonas aeruginosa* infections in cystic fibrosis" Cell Biology and Pharmacology of Mendelian Disorders, 7-11 October 2011, Vico Equense, Italy
- Porzio E. et al. "Exploring paraoxonases/lactonases to counteract *Pseudomonas* infection" Fifth International Conference on Paraoxonases (5PON), July 15-18 2012, Columbus, Ohio, USA. (Poster) P56
- Porzio E. et al. "Quorum quenching activity of archaeal lactonases against *Pseudomonas aeruginosa* in a *Drosophila* infection mode" 2015 1 International Symposium on Quorum Sensing Inhibition. Santiago de Compostela, Spain
- FFC Project #13/2010 **"*Pseudomonas aeruginosa* lipopolysaccharide cell surface transport is a target process for developing new antimicrobials"**

Alessandra Polissi (Dip. Biotecnologie e Bioscienze, Università Milano-Bicocca), Martino Bolognesi (Dip. Scienze Biomolecolari e Biotecnologie, Università di Milano), Gianni Dehò (Dip. Scienze Biomolecolari e Biotecnologie, Università di Milano), Francesco Peri (Dip. Biotecnologie e Bioscienze, Università Milano-Bicocca) Cristina De Castro (Dip. Chimica Organica e Biochimica, Università di Napoli), Luca De Gioia (Dip. Scienze Biomolecolari e Biotecnologie, Università di Milano)

Publications

- Sperandeo P. et al. "Lipopolsaccharide export to the outer membrane" In "Bacterial Lipopolysaccharide: structure, chemical synthesis, biogenesis and interaction with host cells" Knirel Y.A. and Valvano M.A. Eds., Springer WienNewYork pp. 311-337
- Villa R. et al. "The Lpt transenvelope protein complex for lipopolysaccharide export is assembled via conserved structurally homologous domains" (submitted)
- Sperandeo P. et al. "The outer membrane of Gram-negative bacteria: lipopolysaccharide biogenesis and transport" In "Bacterial Membranes: Structural and Molecular Biology" Remaut H. and Fronzes R. Eds., Horizon Scientific Press (in press)

Abstracts

- Martorana A. et al. "New insights into the Lpt Machinery for Lipopolysaccharide tran sport to the cell surface: functional dissection of LptC protein" 12th FISV Congress, Rome, September 24-27, 2012
- FFC Project #14/2010 **"Non-conventional strategies against *Pseudomonas aeruginosa* infection: interference with iron homeostasis and quorum sensing"**

Paolo Visca (Dipart. Biologia, Università Roma Tre, Roma); Livia Leoni (Dipart. Biologia, Università Roma Tre, Roma)

Publications

- Bazzini S. et al., "Deciphering the role of RND efflux transporters in *Burkholderia cenocepacia*" 2011. PLoS One. 6:e18902.
- Venturi V. et al., "The virtue of temperance: built-in negative regulators of quorum sensing in *Pseudomonas*" Mol Microbiol. 2011 Dec;82(5):1060-70
- Rampioni G. et al., "Functional characterization of the Quorum Sensing Regulator RsaL in the plant-beneficial strain *Pseudomonas putida* WCS358" Appl Environ Microbiol. 2012 Feb;78(3):726-34.
- Minandri F. et al., "Promises and failures of gallium as an antibacterial agent" Future Microbiology, 2014, 9(3), 379-397
- Bonchi C. et al. "Repurposing of gallium-based drugs for antibacterial therapy" Biofactors 2014 May-Jun;40(3):303-12.
- Frangipani E. et al. "Pyochelin Potentiates the Inhibitory Activity of Gallium on *Pseudomonas aeruginosa*" Antimicrob Agents Chemother. 2014 Sep;58(9):5572-5

Abstracts

- Buroni S. et al., "The role of RND efflux transporters in *Burkholderia cenocepacia* life" International Burkholderia cepacia working group - 15th annual meeting. Praga, 13-16 Aprile 2011
- Longo F. et al., "Picking up novel *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing regulators" FEMS 2011- 4th Congress of European Microbiologists. Geneva, 26-30 giugno 2011
- Buroni S. et al., "Deciphering the role of RND efflux transporters in *Burkholderia cenocepacia*. FEMS 2011- 4th Congress of European Microbiologists. Geneva, 26-30 giugno 2011
- Imperi F. et al. "A new biosensor provides fast and cost-effective identification of *Pseudomonas aeruginosa* virulence inhibitors" FEMS 2011- 4th Congress of European Microbiologists. Geneva, 26-30 giugno 2011
- Bazzini S. et al. "New insight into *Burkholderia cenocepacia* RND efflux systems" SIMGBM 2011- 29th Congress of Italian Microbiologists. Pisa, 21-23 settembre 2011
- Longo F. et al. "Picking up novel *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing regulators" SIMGBM 2011-29th Congress of Italian Microbiologists. Pisa, 21-23 settembre 2011

- Ramachandran Pillai C. et al., "Non conventional strategies against *Pseudomonas aeruginosa*: evaluation of efflux pumps inhibitors as anti-virulence drugs" SIMGBM 2011- 29th Congress of Italian Microbiologists. Pisa, 21-23 settembre 2011

- FFC Project #10/2011 **"Pulmonary delivery of inhaled peptidomimetic as novel antibiotics to control *Pseudomonas aeruginosa* infection in murine models"**

Alessandra Bragonzi (Infection and Cystic Fibrosis Unit, Division of Immunology, Transplantation and Infectious Disease, San Raffaele Scientific Institut, Milano), Daniel Obrecht (Polyphor Ltd, Switzerland)

Abstracts

- Bragonzi A. et al., "Evaluation Of Efficacy of POL7001 Against *Pseudomonas aeruginosa* in Lung Infection Models" 35th European Cystic Fibrosis Conference- 6-9 June 2012, Dublin

- FFC Project #11/2011 **"Design, synthesis, in vitro biological evaluation and anti-biofilm activity of new beta-lactam and linezolid-like compounds as potential antibacterial agents against *Staphylococcus aureus* infections in cystic fibrosis patients"**

Clementina Elvezia Cocuzza (Dip. Medicina Clinica e Prevenzione, Università di Milano-Bicocca), Lisa Cariani (Fond. IRCCS Ca' Granda, Osp. Maggiore Policlinico, Dip. Pediatria, Milano), Daria Giacomini (Dip. Chimica, Università di Bologna)

Publications

- Cervellati R. et al. "Monocyclic -lactams as antibacterial agents: facing antioxidant activity of N-methylthio-azetidinones" Eur J Med Chem. 2013 Feb;60:340-9. doi: 10.1016/j.ejmech.2012.12.024. Epub 2012 Dec 20.
- Galletti P. et al. "Antibacterial agents and cystic fibrosis: synthesis and antimicrobial evaluation of a series of N-thiomethylazetidinones" ChemMedChem. 2011 Oct 4;6(10):1919-27. doi: 10.1002/cmdc.201100282. Epub 2011 Aug 10.
- Braschi I, Blasioli S, Fellet C, Lorenzini R, Garelli M, Giacomini D. "Persistence and degradation of new beta-lactam antibiotics in the soil and water environment" Chemosphere 2013; 93: 152-159
- Cervellati R, Galletti P, Greco E, Cocuzza C.E. et al. "Monocyclic betalactams as antibacterial agents: facing antioxidant activity of N-methyl-azetidones" European Journal of Medicinal Chemistry 2013; 60: 340-349

Abstracts

- Soldati R. et al. "Synthesis of new bioactive betalactam derivates (from dual activity compounds to integrin inhibitors through differentiating agents)" XXV Congresso Società Chimica Italiana

- FFC Project #12/2011 **"New drugs for *Burkholderia cepacia* from Antarctic bacteria"**

Renato Fani (Dip. Biologia dell'Evoluzione, Università di Firenze); Maria Luisa Tutino (Dip. Chimica Organica e Biochimica, Università Federico II, Napoli); Paolo Rovero (Dip. Scienze Farmaceutiche, Università di Firenze)

Publications

- Romoli R. et al. "Characterization of the volatile profile of Antarctic bacteria by using solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry" J Mass Spectrom. 2011 Oct;46(10):1051-9.
- Papaleo MC. et al. "Sponge-associated microbial Antarctic communities exhibiting antimicrobial activity against *Burkholderia cepacia* complex bacteria" Biotechnol Adv. 2012 Jan-Feb;30(1):272-93. Epub 2011 Jun 29
- Fondi M. et al. "Draft Genome Sequence of the Volatile Organic Compound-Producing Antarctic Bacterium Arthrobacter sp. Strain TB23, Able To Inhibit Cystic Fibrosis Pathogens Belonging to the *Burkholderia cepacia* Complex" J Bacteriol. 2012 Nov;194(22):6334-5
- Papaleo MC. et al. "Bioactive volatile organic compounds from Antarctic (sponges) bacteria" N Biotechnol. 2013 Sep 25;30(6):824-38
- Romoli R. et al. "GC-MS volatolomic approach to study the antimicrobial activity of the antarctic bacterium *Pseudomonas* sp. TB41" Metabolomics, June 2013
- Fondi M. et al. "Draft genomes of three Antarctic Psychrobacter strains producing antimicrobial compounds against *Burkholderia cepacia* complex, opportunistic human pathogens" Mar Genomics 2014 Feb;13:37-8. doi: 10.1016/j.margen.2013.12.009. Epub 2014 Jan 5

Abstracts

- Papaleo MC. et al. "Volatile organic compounds (VOCs) from antarctic communities bacteria inhibiting cystic fibrosis pathogens" 12th FISV Congress: 70, Roma 24-27 settembre, 2012
- Papaleo MC. et al. "Bioactive volatile organic compounds (VOCs) from antarctic sponges bacteria" EMB 2012, Bologna, Italy, April 10-12, 2012
- Lentini L., Melfi R., Pibiri I. et al. "Azione readthrough di derivati del PTC124 su sistemi modello cellulari e in cellule di epitelio bronchiale-FC IB3.1" (CFTR F508/W1282XCONVEGNO SIFC 2013, Città del Mare-Terrasini, Palermo)

- FFC Project #13/2011 “**Identification and characterization of novel drugs suppressing Pseudomonas aeruginosa virulence in chronic infection**”

Livia Leoni (Dip. Biologia, Università di Roma Tre, Lab. Microbiol. Molecolare e Biotec. Microrganismi), Francesco Imperi (Dip. Biologia e Biotecnologie, Università “La Sapienza”, Roma)

Publications

- Venturi V. et al. “The virtue of temperance: built-in negative regulators of quorum sensing in *Pseudomonas*” Mol Microbiol. 2011 Dec;82(5):1060-70
- Stano P. et al. “Semi-synthetic minimal cells as a tool for biochemical ICT” BioSystems, Biosystems. 2012 Jul;109(1):24-34
- Imperi F. et al. “Repurposing the antimycotic drug flucytosine for suppression of *Pseudomonas aeruginosa* pathogenicity” Proc Natl Acad Sci USA, 2013 Apr 8
- Imperi F. et al. “*Pseudomonas aeruginosa* pyoverdine” SciBX 6(15), April 8, 2013
- Frangipani E. et al. “The Gac/Rsm and cyclic -di-GMP signalling networks coordinately regulate iron uptake in *Pseudomonas aeruginosa*” Environ Microbiol. 2014 Mar;16(3):676-88
- Malvezzi Campeggi F. “Latest advances in drug repurposing for Cystic Fibrosis lung infections” Journal of Postdoctoral Research Vol 2:2
- Rampioni G. et al. “The art of antibacterial warfare: Deception through interference with quorum sensing-mediated communication” Bioorg Chem. 2014 Aug;55:60-8. doi: 10.1016/j.bioorg.2014.04.005. Epub 2014 Apr 21.
- FFC Project#14/2011 “**Development of new host defence like peptides and lipopeptides against lung pathogens: in vitro and in vivo studies**” Maria Luisa Mangoni (Dip. Scienze Biochimiche, Univ. “La Sapienza”, Roma), Shai Yechiel (Dep. of Biological Chemistry, The Weizmann Institute of Science, Israel)

Publications

- Luca V. et al. “Esculentin(1-21), an amphibian skin membrane-active peptide with potent activity on both planktonic and biofilm cells of the bacterial pathogen *Pseudomonas aeruginosa*” Cell Mol Life Sci. 2013 Aug;70(15):2773-86. doi: 10.1007/s0018-013-1291-7. Epub 2013 Mar 16.
- Tia Sergev-Zarko et al. “A comparative study on the mechanism of biofilm inhibition and degradation by antimicrobial peptides” manuscript in preparation
- Di Grazia A. et al. “D-Amino acids incorporation in the frog skin-derived peptide esculentin-1a(1-21)NH₂ is beneficial for its multiple functions” Amino Acids. 2015 Jul 11. [Epub ahead of print]
- Segev-Zarko L. et al. “Mechanisms of biofilm inhibition and degradation by antimicrobial peptides” Biochem J. 2015 Jun 1;468(2):259-70
- Mangoni ML. et al. “Fighting microbial infections: A lesson from amphibian skin-derived esculentin-1 peptides” Peptides. 2015 Sep;71:286-95

Abstracts

- Luca V. et al. “Antipseudomonal activity of the amphibian antimicrobial peptide Esculentin (1.21) and plausible mode of action” 2014 FISV-XIII Congress (Pisa, 24-27 September)
- FFC Project#16/2011 “**Achromobacter xylosoxidans** an emerging pathogen in Cystic Fibrosis patients: from molecular characterization to development of innovative therapeutic strategies based on the antibacterial activities of *Bdellovibrio* predator bacteria” Serena Quattrucci (Dip. Pediatria e Neuropsichiatria Inf., Univ. “La Sapienza”, Polycl. Umberto I, Centro fibrosi cistica, Roma), Maria Trancassini (Dip. Salute Pubblica e Malattie Infettive, Università “La Sapienza” Roma), Serena Schippa (Dip. Salute pubblica e Malattie Infettive, Univ. La Sapienza, Roma), Mauro Nicoletti (Dip. Scienze Biomediche, Università “G. D’Annunzio”, Chieti)

Publications

- Lebba V. et al. “*Bdellovibrio* bacteriovorus directly attacks *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* Cystic fibrosis isolates” Front Microbiol. 2014 Jun 5;5:280. doi: 10.3389/fmicb.2014.00280. eCollection 2014.

- FFC Project#24/2011 “**Preclinical development of the antimicrobial peptide M33. Efficacy against *P. aeruginosa* lung infections and pharmacokinetics studies in animals**”

Alessandro Pini (Dipartimento di Biotecnologie, Università di Siena)

Publications

- Falciani C. et al. “Isomerization o fan Antimicrobial peptide broadens antimicrobial spectrum to Gram-Positive bacterial pathogens” PloS One. 2012;7(10):e46259
- FFC Project#7/2012 “**Metalloproteases released by *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains as virulent factors in CF: clinical correlations and chemical modulators**”

Gabriella Bergamini (Dip. Patologia e Diagnostica, Sez. Patologia Generale, Università di Verona), Paola Melotti (Centro Regionale Fibrosi Cistica, AOUI Verona)

Abstracts

- Bergamini, G., Stellari, F., Sandri A. et all. “*Pseudomonas aeruginosa* metalloproteases inhibition reduces lung damage in cystic fibrosis” 30 th Cystic Fibrosis North American Conference, October 27-29, 2016, Orlando (Florida)

- FFC Project#8/2012 “**Investigation of cystic fibrosis airway microbiome in patients showing a severe decline in lung function and not responding to conventional antimicrobial therapy**”

Annamaria Bevilino (Unità per lo Sviluppo Sostenibile e Innovazione Sistema Agro-Industriale, ENEA, Roma), Alessio Mengoni (Dip. Biologia dell’Evoluzione, Università di Firenze), Giovanni Taccetti (Centro FC, Ospedale “A. Meyer”, Firenze), Ersilia Fiscarelli (Laboratorio Microbiologia, Ospedale “Bambini Gesù”, Roma), Graziana Manno (Dip. di Scienze Pediatriche, Università di Genova)

Publications

- Bevilino A. et al. “The evolving polymicrobial composition in the airways of patients with cystic fibrosis: implications for disease progression and clinical management” www.currentmedicalliterature.com 2013 CML-Cystic fibrosis
- Paganin P. et al. “Changes in cystic fibrosis airway microbial community associated with a severe decline in lung function” PLoS One. 2015 Apr 21;10(4):e0124348
- Bacci G. et al. “Pyrosequencing Unveils Cystic Fibrosis Lung Microbiome Differences Associated with a Severe Lung Function Decline” PLoS ONE 2016 Jun 29;11(6):e0156807. doi: 10.1371/journal.pone.0156807

Abstracts

- Bevilino A. et al. “Investigation of cystic fibrosis airway microbiome in patients showing a severe decline in lung function and not responding to conventional antimicrobial therapy” 36th European Cystic Fibrosis Conference (ECFC), Lisboa, 12-15 June, 2013

- Bevilino A. et al. “Microbiota composition in the airways of cystic fibrosis with severe decline in lung infection” NACFC 2013, Salt Lake City, Utah, USA
- Fiscarelli E, Paganin P, Tuccio V, Chiancianesi M, Taccetti G, Lucidi V, De Alessandri A, Mengoni A, Bevilino A. “Airway microbiota in cystic fibrosis patients with a severe decline in lung function” 24th ECCMID 10-13 May, Barcelon, Spain

- FFC Project#10/2012 “**A very promising drug against *Burkholderia cepacia***”

Giovanna Riccardi (Dipartimento di Biologia e Biotecnologie, Università di Pavia)

Publications

- Udine C. et al. “Phenotypic and genotypic characterisation of *Burkholderia cepacia* J2315 mutants affected in homoserine lactone and diffusible signal factor-based quorum sensing systems suggests interplay between both types of systems” PLoS One. 2013;8(1):e55112
- Perrin E. et al. “A census of RND-superfamily proteins in the *Burkholderia* genus” Future Microbiol. 2013 Jul;8:923-37

- FFC Project#12/2012 “**Naturally occurring antimicrobials to counteract lung infections in cystic fibrosis patients: Cecropin A-Melittin (CA-M) hybrid peptides and polymixins**”

Alba Silipo (Dip. Scienze Chimiche, Università “Federico II”, Napoli), Giovanni Di Bonaventura (Dip. Scienze Biomediche, Università Chieti-Pescara)

Publications

- Di Lorenzo F. et al. “Persistent cystic fibrosis isolate *Pseudomonas aeruginosa* strain RP73 exhibits an under-acylated LPS structure responsible of its low inflammatory activity” Mol Immunol. 2014 May 21. pii: S0161-5890(14)00084-4. doi: 10.1016/j.molimm.2014.04.004. [Epub ahead of print]
- Kukavica-Ibrulj I. et al. “Assessing *Pseudomonas aeruginosa* Virulence and the Host Response Using Murine Models of Acute and Chronic Lung Infection” Methods Mol Biol. 2014;1149:757-71. doi: 10.1007/978-1-4939-0473-0_58.

Abstracts

- Vitiello G. et al. “Investigation of liposome-based membranes formed by lipopolysaccharides and their interaction with hybrid antimicrobial peptides” Poster Communication. XXIV Congresso della Società Italiana di Spettroscopia Neutronica (SISN), Milano 11-12 Settembre 2013.

- Silipo A. “STD NMR as a tool for studying protein-ligand interactions”, PhD Lecture in Gliwice, Department of Organic Chemistry, Bioorganic Chemistry and Biotechnology, Faculty of Chemistry, Silesian University of Technology, Gliwice, Poland <http://www.chemia-bioorganiczna.polsl.pl/default.htm>

- Molinaro A. “Structural Glycoscience”, 4-6 Nov 2013, Grenoble, France, COST Training School nell’ambito della COST Action BM1003. <http://www.cost-bm1003.info/>

- FFC Project#13/2012 “**Role of high affinity zinc transporters in *Pseudomonas aeruginosa* ability to colonize the inflamed cystic fibrosis lung**”

Andrea Battistoni (Dip. Biologia, Università Tor Vergata, Roma)

Publications

- D'Orazio M. et al. "Pseudomonas aeruginosa capability to colonize the CF lung may be favored by its remarkable ability to recruit zinc under conditions of limited metal availability" *Journal of Cystic Fibrosis Suppl Goteborg* 13, S3
- D'Orazio M. et al. "The capability of Pseudomonas aeruginosa to recruit zinc under conditions of limited metal availability is affected by inactivation of the ZnuABC transporter" *Metalomics*. 2015 Jun;7(6):1023-35

Abstracts

- D'Orazio M. et al. "Pseudomonas aeruginosa capability to colonize the CF lung may be favored by its remarkable ability to recruit zinc under conditions of limited metal availability" Poster presented at the ECFS 2014 Meeting, Goteborg
- D'Orazio M. et al. "Involvement of Enzymes of the Protein Disulphide Isomerase Family in the Interaction of Burkholderia cenocepacia with Epithelial Cells" ECFS Basic Science Conference, Malaga 2013

• FFC Project#17/2012 **"The role of vascular endothelium in cystic fibrosis inflammation"**

Mario Romano (Dip. Scienze Biomediche, Università Chieti-Pescara, Lab. Medicina Molecolare), Licia Totani (Dip. Farmacologia Traslazionale, Consorzio "Mario Negri" Sud, Chieti), Marco Marchisio (Dip. Medicina e Scienze dell'Invecchiamento, Università Chieti-Pescara), Paolo Moretti (Centro FC, Teramo)

Publications

- Pierdomenico AM et al. "MicroRNA-181b regulates ALX/FPR2 receptor expression" *J Biol Chem.* 2015 Feb 6;290(6):3592-600
- FFC Project#8/2013 **"Exploring pyrazinamide derivatives as novel Pseudomonas aeruginosa inhibitors: unexploited antibacterial molecules for a new antibiotics target"**

Federica Briani (Dip. di Bioscienze-Università degli Studi di Milano)

Abstracts

- Bergamini G. et al. "Axitromycin effect on lung inflammation induced by Pseudomonas aeruginosa released proteases as shown by in vivo imaging in IL-8 transiently transgenized mice" 28th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Atlanta, October 9-11, 2014
- FFC Project#10/2013 **"Anti-virulence therapy against Pseudomonas aeruginosa: identification of antibiotic drugs and development of inhalable Niclosamide and Flucytosine formulations"**

Livia Leoni (Dip. di Scienze, Università "Roma Tre"), Francesca Ungaro (Dip. di Farmacia, Università di Napoli Federico II), Francesco Imperi (Dip. di Biologia e Biotecnologia, Università "La Sapienza", Roma), Ersilia Fiscarelli (Ospedale e Ist. di ricerca "Bambin Gesù", Lab. Microbiologico fibrosi cistica, Roma)

Publications

- D'Angelo I. et al. "Improving the efficacy of inhaled drugs in cystic fibrosis: challenges and emerging drug delivery strategies" *Adv Drug Deliv Rev* 2014; 30: 92-111
- Imperi F. et al. "Antivirulence activity of azithromycin in Pseudomonas aeruginosa" *Frontiers in Microbiology* 2014;5: 178
- Llamas MA. Et al. "Cell-surface signaling in Pseudomonas: stress response, iron transport and pathogenicity" *FEMS Microbiol Rev* 2014; 38:569-97

Abstracts

- Costabile G. et al. "Repositioning niclosamide for anti-virulence therapy against *P. aeruginosa* lung infections: development of nano-suspensions for inhalation" 1st Italian CF Young Investigator Meeting January 16th - 17th 2015, Rome, Italy
- Visaggio D. et al. "Exopolysaccharide-mediated aggregation promotes pyoverdine-dependent iron uptake and virulence in *Pseudomonas aeruginosa*" 1st Italian CF Young Investigator Meeting January 16th - 17th 2015, Rome, Italy
- Costabile G., d'Angelo I., Miro A. et al. "Inhalable hyaluronan/manitol microparticles for local delivery of flucytosine against *Pseudomonas aeruginosa* lung infections" 9th A.I.t.U.N. Annual Meeting From food to pharma: the polyedral nature of polymers Milan, 2015, May 25-27
- Costabile G., d'Angelo I., Mitidieri E. et al. "Repositioning 5-flucytosine for anti-virulence therapy of *Pseudomonas aeruginosa* lung infections: development of inhalable hyaluronan/ mannitol dry powders Micro and Nanotechnologies to overcome biological barriers" Thematic workshop of Controlled Release Society Italy Chapter. Naples 2015, November 12-14 th
- Costabile I., d'Angelo I., D'Emmanuele R. et al. "Drug reposition for anti-virulence therapy of *Pseudomonas aeruginosa* lung infections: development of inhalable formulations" XXIII National Meeting on Medicinal Chemistry, Salerno, 2015 September 6-9
- FFC Project#11/2013 **"Inhalable dry powders for chemically-modified human Cationic AntiMicrobial Peptides (CAMPs): moving toward in vivo application"**

Eugenio Notomista (Dip. Biologia, Università di Napoli "Federico II"), Francesca Ungaro (Dip. di Farmacia, Università di Napoli Federico II)

Publications

- d'Angelo I. et al. "Improving the efficacy of inhaled drugs in cystic fibrosis: Challenges and emerging drug delivery strategies" *Adv Drug Deliv Rev* 2014 Aug 30;75C:92-111

Abstracts

- d'Angelo I. et al. "Nano-Embedded Microparticles for Lung Delivery of Antimicrobial Peptides against *P. aeruginosa* Infections: Overcoming Lung Barriers" In: 2nd International Conference on Nanotechnology in Medicine, University College London, Royal Free Hospital Campus, United Kingdom 26-28 February 2014. Selected as oral presentation
- d'Angelo I. et al. "Inhalable dry powders for local administration of antimicrobial peptides against *P. aeruginosa*: overcoming lung barriers" International Conference and Workshop on Biological Barriers, 16-21 February, 2014, Saarland University, Germany
- Pane K., Cafaro V., Avitabile A. et al. "Development of new carrier protein for AMPs production" 5th International Meeting on Anti-microbial Peptides, Burlington House, London. 7-8 September, 2015

• FFC Project#12/2013 **"Preclinical development of the antimicrobial peptide M33 and onset of regulatory procedures for clinical trials"** Alessandro Pini (Dip. di Biotecnologie Mediche, Università di Siena)

Publications

- Brunetti J. et al. "A Novel Phage-Library-Selected Peptide Inhibits Human TNF- Binding to Its Receptors" *Molecules* 2014: 19:7255-7268
- FalcianiC. et al. "Site-specific pegylation of an antimicrobial peptide increases resistance to Pseudomonas aeruginosa elastase" *Amino-Acids* 2014; 45(5):1403-1407
- Brunetti J. et al. "In vitro and in vivo efficacy, toxicity, bio-distribution and resistance selection of a novel antibacterial drug candidate" *Sci Rep.* 2016 May 12;6:26077. doi: 10.1038/srep26077
- Ceccherini F. et al. "Antimicrobial activity of levofloxacin-M33 peptide conjugation or combination" *MedChemComm* 2016,7,258

Abstracts

- Brunetti J. et al. "A novel synthetic antimicrobial peptide. A new weapon for multidrug resistant bacteria?" 14th Naples Workshop on Bioactive Peptides, June 12-14, 2014
- Roscia G. et al. "In vitro and in vivo characterization of a novel synthetic antimicrobial peptide for lung infections and sepsis" 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th - 17th 2015, Rome, Italy

• FFC Project#10/2014 **"Investigating the airway microbiome in cystic fibrosis patients with a severe decline in lung function: an opportunity for a personalized microbiomebased therapy"**

Bevivino Annamaria (Technical Unit for Sustainable Development and Innovation of Agro-Industral System, ENEA Casaccia Research Center, Lab. Microbiologia, Rome), Alessio Mengoni (Dip. Biologia, Università di Firenze), Giovanni Taccetti (Dip. di pediatria, Centro FC, Ospedale "A. Meyer", Firenze), Ersilia Vita Fiscarelli (Laboratorio Microbiologia, Ospedale "Bambin Gesù", Roma), Alessandra De Alessandri (Dip. di Scienze Pediatriche, Centro FC, Università di Genova, Istituto "G. Gaslini")

Abstracts

- Bacci G. et al. "Exploring the airway microbiome of cystic fibrosis patients: an opportunity for a personalized microbiome-based therapy" 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th - 17th 2015, Rome, Italy
- Bevivino A. "Taxonomic and functional analysis of the airway samples from cystic fibrosis patients with lower and higher pulmonary function decline", 3 World Congres on Targeting Microbiota, October 21-23, 2015 Institute Pasteur, Paris
- Bacci G. et al. "Taxonomic signatures of CF airway microbiota distinguish between patients with lower and higher pulmonary function decline", 38th ECFS Conference, Brussels, Belgium, 10-13 June 2015
- Bacci G. et al. "Taxonomic and functional metagenomic analysis of sputum samples from stable cf patients with lower and higher pulmonary function decline", NACFC 2015

• FFC Project#11/2014 **"Development and preclinical testing of a novel antimicrobial peptide to treat Pseudomonas aeruginosa-induced lung infections"**

Maria Luisa Mangoni (Dip. di Scienze Biochimiche, Università "La Sapienza", Roma)

Publications

- Cappiello F. et al. "Esculetin-1a-Derived Peptides Promote Clearance of *Pseudomonas aeruginosa* Internalized in Bronchial Cells of Cystic Fibrosis Patients and Lung Cell Migration: Biochemical Properties and a Plausible Mode of Action" *Antimicrob Agents Chemother.* 2016 Sep 26. pii: AAC.00904-16
- Ghosh A. et al. "NMR structure and binding of esculetin-1a (1-21)

NH₂ and its diastereomer to lipopolysaccharide: Correlation with biological functions" *Biochim Biophys Acta.* 2016 Apr;1858(4):800-12

Abstracts

- Luca V. et al. "Anti-Pseudomonal activity of the amphibian antimicrobial peptide Esculentin (1-21) and plausible mode of action", FISV 2014-XIII Congress (Pisa, 24-27 September)
- Mangoni ML et al. "Esculentin-1a(1-21) and its diastereomer: frog skin-derived peptides with anti-Pseudomonal activities" Oral Presentation at RegPep Symposium 2016, Rouen July 2016. France

- FFC Project#12/2014 **"Inhalable dry powders for chemically-modified human Cationic AntiMicrobial Peptides (CAMPs): moving toward in vivo application"**

Eugenio Notomista (Dip. di Biologia, Università di Napoli "Federico II"), Francesca Ungaro (Dip. di Farmacia, Università di Napoli "Federico II")

Publications

- d'Angelo I. et al. "Overcoming barriers in *Pseudomonas aeruginosa* lung infections: Engineered nanoparticles for local delivery of a cationic antimicrobial peptide" *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2015 Aug 22;135:717-725

Abstracts

- Avitabile A. et al. "The activation peptide of human pepsinogen is an antimicrobial peptide" IMAP Meeting 2015

- Pane K. et al. "Development of new carrier protein for AMPs production" IMAP Meeting 2015

- FFC Project#16/2014 **"Lactoferrin-loaded niosomes in reducing inflammation and infection of cystic fibrosis airways"**

Francesca Berlotti (Dip. Sanità Pubblica e Malattie infettive, Università "La Sapienza", Roma)

Abstracts

- Valenti P. et al. "Aerosolized lactoferrin reduces inflammation and infection in a mouse model of cystic fibrosis lung infection" XIth International Conference on Lactoferrin, Structure, Function and Applications 2-6 Novembre 2015, Nagoya Japan

- FFC Project#14/2014 **"TRPA1 channels as novel molecular targets for anti-inflammatory therapies in CF lung"**

Francesca Berlotti (Dip. Sanità Pubblica e Malattie infettive, Università "La Sapienza", Roma)

Abstracts

- Cabrini G. et al. "Intracellular calcium mobilization as amplifier of the inflammatory response in CF bronchial epithelial cells" 13th ECFS Basic Science Conference, 30 March - 02 April 2016, Pisa, Italy

- Cabrini G. et al. "Intracellular calcium mobilization and the inflammatory response in CF bronchial epithelial cells" The 30th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, October 27-29, 2016

- FFC Project#18/2014 **"GSH inhalation therapies in CF: how useful, how safe? Set-up of a CF murine model for monitoring of inflammation in vivo and assessment of convenient alternatives"**

Alessandro Corti (Dip. di Ricerca Traslazionale NTMS - Lab. Patologia Generale, Università di Pisa)

Abstracts

- Corti A. et al. "Increasing levels of sputum gamma-glutamyltransferase may be a contraindication to glutathione inhalation therapies in cystic fibrosis" 3rd Joint Meeting of Pathology and Laboratory Medicine. 4-6 October 2016 - Montesilvano (Pescara), Italy

- FFC Project#20/2014 **"Identification and characterization of LPS-neutralizing human peptides: potential tools to control inflammation in cystic fibrosis lung disease"**

Eliodoro Pizzo (Lab. di Struttura e Funzione delle Proteine-SFP, Dip. di Biologia, Università di Napoli "Federico II"), Emilia Maria Pedone (Istituto di Biostrutture e Bioimmagini, C.N.R Napoli)

Abstracts

- Bosso A. et al. "A new active antimicrobial peptide from PD-L4, a type 1 ribosome inactivating proteins of *Phytolacca dioica* L." IMAP 2015 5th International Meeting on Antimicrobial Peptides Burlington House, London September 7-8, 2015

- Pane K. et al. "Development of new carrier protein for AMPs production" IMAP 2015, 5th International Meeting on Antimicrobial Peptides Burlington House, London September 7-8, 2015

- Avitabile A. et al. "The activation peptide of human pepsinogen is an antimicrobial peptide" IMAP 2015, 5th International Meeting on Antimicrobial Peptides, Burlington House, London September 7-8, 2015

- Pane K. et al. "A novel carrier protein for AMPs production" 5th Antimicrobial International Meeting on Antimicrobial Peptides, Burlington House 7th-8th September 2015

- Verrillo M. et al. "Recombinant production and labelling of peptides with N-terminal cysteine residue" 15th Naples Workshop on Bioac-

tive Peptides. June 23-25, 2016, Naples, Italy

- Bosso A. et al. "Cryptic anti-microbial peptides in human secretory proteins: the case of H11 β (235-261)." 15th Naples Workshop on Bioactive Peptides. June 23-25, 2016, Naples Italy
- Pane K. et al. "Novel antimicrobial weapons hidden in human secretome" Altant Conference May 18-20, 2016 Utrecht, Netherlands
- Verrillo MV. et al. "Efficient production and labeling of recombinant peptides endowed with a N-terminal cysteine residue" Proteine, March, 30 - April, 1 2016 Bologna, Italy
- Zanfardino A. et al. "Two new cryptic antimicrobial peptides identified in the human Apolipoprotein" FISV, 20-23 september 2016 Rome, Italy

- FFC Project#21/2014 **"Resolvin D1 for Targeting Chronic Lung Inflammation and Infection in Cystic Fibrosis"**

Antonio Recchiuti (Dip. di Scienza Clinica e Sperimentale e Centro di Eccellenza sull'Invecchiamento-CeSI, Università "G. d'Annunzio", Chieti-Pescara)

Abstracts

- Codagnone M. et al. "Resolvin D1 enhances resolution of inflammation caused by chronic *Pseudomonas aeruginosa* lung infection" 13th ECFS Basic Science Conference, 30 March - 2 April 2016, Pisa, Italy

- FFC Project#24/2014 **"he role of Glucocerebrosidase GBA2 in cystic fibrosis lung inflammation: from molecular mechanism to therapeutic strategies"**

Sandro Sonnino (Dip. di Biochimica Medica e Medicina Traslazionale, Università di Milano)

Abstracts

- Schiumarini D. et al. "Involvement of GBA2 in the inflammatory response to *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis" 29th North American Conference, Phoenix, October 8-10, 2015

- Schiumarini D. et al. "Involvement of glycosphingolipid -hydrolase in the inflammatory response to *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis" 39th ECFS Conference, Basilea, 8-11 June 2016 - Riunione dei Giovani Biochimici dell'Area Milanese, Gargnano, 2016 - 13th ECFS Basic Science Conference, 30 March - 02 April 2016, Pisa, Italy

- FFC Project#10/2015 **"A CF IL-8 transgenic mouse model for the in vivo, long-term monitoring of the anti- inflammatory role of metallo-protease inhibitors and antibiotics with mechanisms of action similar to that of azithromycin"**

Maria M. Lleò (Dipartimento di Patologia e Diagnostica, sezione di Microbiologia - Università di Verona)

Abstracts

- Sandri A. et al. "Monitoraggio in vivo dell'infiammazione polmonare in topi CFTR-/-" 39th European Cystic Fibrosis Conference, 8 - 11 June 2016, Basel, Switzerland

- FFC Project#11/2015 **"Genetically diverse mice as innovative model for cystic fibrosis"**

Nicola Ivan Lorè (Divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie Infettive - Istituto Scientifico San Raffaele, Milano)

Abstracts

- Lorè N., Sipione B., Mott R. et al. "Host genetic traits influence the severity of respiratory infections by *Pseudomonas aeruginosa*" The 30th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, October 27-29, 2016

- FFC Project#12/2015 **"Anti-inflammatory and anti-bacterial activity of bovine lactoferrin administered by aerosol in airways infections of pre-clinical wt and CF mouse models"**

Francesca Berlotti (Dip. di Salute Pubblica e Malattie Infettive - Università La Sapienza, Roma)

Publications

- Valenti P. et al. "Aerosolized bovine lactoferrin reduces neutrophils and pro-inflammatory cytokines in mouse models of *Pseudomonas aeruginosa* lung infections" *Biochemistry and Cell Biology (In press)*

Abstracts

- Gramaccioli C., Procopio A., Malucelli E. et al. "Combined use of x-ray fluorescence microscopy, phase contrast imaging and nanotomography for high resolution quantitative Fe mapping in inflamed cells" 13th International Conference on X-Ray Microscopy, 15-19 August 2016, Oxford, United Kingdom

- FFC Project#14/2015 **"Investigating the airway microbiome in cystic fibrosis patients with a severe decline in lung function: an opportunity for a personalized microbiome-based therapy"**

Anna Maria Bevilacqua (Unità Tecnica per lo Sviluppo e Innovazione del Sistema Agroindustriale - ENEA Agenzia Nazionale Italiana per le Nuove Tecnologie, Energie e Sviluppo Economico Sostenibile, Laboratorio di Microbiologia, Centro Ricerche Casaccia, Roma), Alessio Mengoni (Dip. di Biologia, Università di Firenze); Giovanni Taccetti (Dip. di Pediatria, Centro fibrosi cistica, Firenze), Ersilia Vita Fiscarelli (Ospedale dei Bambini, Istituto di Ricerca Bambino Gesù,

Lab. di Microbiologia per fibrosi cistica), Alessandra De Alessandri (Centro Fibrosi Cistica, Dip. di Scienze Pediatriche, Pneumologia e Allergologia - Istituto G. Gaslini, Genova)

Abstracts

- Bacci G., Paganin P., Segata N. et al. "The distribution pattern of metabolic modules and antibiotic resistance genes reveals differences in the airway microbiome of cystic fibrosis patients" 13th ECFS Basic Science Conference, 30 March - 02 April 2016, Pisa, Italy
- Bacci G. et al. "Studio del microbioma delle vie aeree FC in pazienti con diverso andamento polmonare" 39th European Cystic Fibrosis Conference, 8 - 11 June 2016, Basel, Switzerland
- FFC Project#16/2015 "**Development of metallo-enzyme inhibitors to overcome *P. aeruginosa* antibiotic-resistance in cystic fibrosis patients**"
Sandra Gemma (Dipartimento di Biotecnologia, Chimica e Farmacia - Università di Siena), Jean-Denis Docquier (Dip. di Biotecnologia Medica - Università di Siena)
- Publications
 - Brindisi M. et al. "Targeting clinically-relevant metallo-β-lactamases: from high-throughput docking to broad-spectrum inhibitors", Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry DOI: 10.3109/14756366.2016.1172575
 - FFC Project#17/2015 "**Phage therapy against *Pseudomonas aeruginosa* infections in cystic fibrosis patients**"

Daniela Erica Ghisotti (Dipartimento di Bioscienze - Università degli Studi di Milano)

Abstracts

- Ghisotti D., Forti F., Briani F. "Phage therapy against *Pseudomonas aeruginosa* infections in cystic fibrosis patients" Phage Therapy World Congress 2016, Parigi, 2-3 giugno 2016

• FFC Project#19/2015 "*Inhalable formulations of new molecules effective against Burkholderia cenocepacia: from in vitro to in vivo applications*"

Giovanna Riccardi (Laboratorio di Microbiologia Molecolare, Dipartimento di Biologia e Biotecnologie Lazzaro Spallanzani, Pavia), Francesca Ungaro (Dip. di Farmacia - Università degli Studi Federico II, Napoli)

Publications

- Scoffone VC. et al. "Discovery of new diketopiperazines inhibiting *Burkholderia cenocepacia* quorum sensing in vitro and in vivo" Sci Rep. 2016 Sep 1;6:32487. doi: 10.1038/srep32487

Abstracts

- Buroni S., Gislason A., Scoffone VC. et al. "A new promising bactericidal compound against *Burkholderia cenocepacia*" XX International Burkholderia cepacia Working Group, Columbus USA, 27-30 Aprile 2016
- Buroni S., Brackman G., Scoffone VC. et al. "New antivirulence compounds affecting *Burkholderia cenocepacia* quorum sensing in vitro and in vivo" XX International Burkholderia cepacia Working Group, Columbus USA, 27-30 Aprile 2016

4. INFLAMMATION

Infiammazione

- Progetti FFC#3/2002, FFC#10/2005 e FFC#17/2006 "**Roles of azithromycin other than bactericidal: relevance for therapy of cystic fibrosis**"

Paola Melotti (Lab. Patologia Molecolare - Centro FC - Ospedale Civile Maggiore - Verona)

Publications

- Cigana C. et al. "Azithromycin selectively reduces tumour necrosis factor alpha levels in Cystic Fibrosis airway epithelial cells" Antimicrobial agents and chemotherapy, Mar. 2007, vol. 51, No. 3, p. 975-981
- Cigana C. et al. "Anti-inflammatory effects of azithromycin in cystic fibrosis airway epithelial cells" Elsevier, Biochemical and Biophysical Research Communications 350 (2006) 977-982
- Nicolis E. et al. "The GCC repeat length in the 5'UTR of MRP1 gene is polymorphic: a functional characterization of its relevance for cystic fibrosis" BMC Med Genet. 2006 Feb 7;7:7.
- Cigana C. et al. "Effects of Azithromycin on the Expression of ATP Binding Cassette Transporters in Epithelial Cells from the Airways of Cystic Fibrosis Patients" J. of Chemotherapy (2007) 19; 643:649
- Bergamini G. et al. "Effects of Azithromycin (AZM) on Glutathione-S-Transferases (GST)s in cystic fibrosis airways cells" Am J Respir Cell Mol Biol, 2009 Aug;41(2):199-206

Abstracts

- Cigana C. et al. "Azithromycin reduces tumour necrosis factor alpha expression in CF airway epithelial cells" The 20th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Denver, Colorado, Nov. 2-5, 2006
- Bergamini G. et al. "Azithromycin (AZM) decreases Glutathione-S-Transferase (GST)-T1 expression and activity in CF airway epithelial cells" 30th European Cystic Fibrosis Conference, Belek, Turkey, 13-16 June 2007
- Cigana C. et al. "Possible mechanisms of action of azithromycin in cystic fibrosis" 15th ERS Annual Congress. Copenhagen, Denmark - September 17-21 2005.
- Cigana C. et al. "Anti-inflammatory effects of azithromycin in cystic fibrosis airway epithelial cells" 16th European Congress of Immunology. Paris, 6-9 September 2006.
- Cigana C. et al. "Reduction of tumour necrosis factor alpha (TNFα) expression by azithromycin (AZM) in CF airway epithelial cells" Journal of Cystic Fibrosis, 29th European Cystic Fibrosis Conference. Copenhagen, 15-18 June 2006.
- Nicolis E. et al. "Analisi della ripetizione GCC nel promotore del gene Multidrug Resistance-Associated Protein 1 (MRP1) in pazienti con Fibrosi Cistica (FC) 6° Congresso Nazionale S.I.G.U. Società Italiana di Genetica Umana - Verona 24 - 27 settembre 2003;
- Cigana C. et al. "Differential expression of the multidrug resistance-associated protein 1 in isogenic CF and non-CF human bronchial epithelial cells" Journal of Cystic Fibrosis 3 (2004) S4-S9 27th European CF Conference. Birmingham, UK 12 - 17 June 2004
- Pasetto M. et al. "Inhibitory effects of azithromycin on interleukin 8 expression by CF airway epithelial cells" Journal of Cystic Fibrosis 3 (2004) S20-S25 27th European CF Conference. Birmingham, UK

12 - 17 June 2004

- Pasetto M. et al. "Inhibitory effects of azithromycin on interleukin 8 production by Cystic Fibrosis airway epithelial cells" Paediatric Pulmonology - The 18th annual North American CF Conference - America's Center, St. Louis, Missouri, October 14-17, 2004;
- Cigana C. et al. "ATP binding cassette proteins: differential expression in isogenic cystic fibrosis and non-cystic fibrosis human bronchial epithelial cell lines" 7^o Congresso Nazionale S.I.G.U. - Pisa 13 - 15 Ottobre 2004;
- Nicolis E. et al. "Is the GCC repeat polymorphic length in the Multidrug resistance-associated protein 1 (MRP1) gene relevant for regulating transcriptional activity constitutively and in response to azithromycin (AZM)?" 28th European CF Conference - Crete, Greece: 22-25 June 2005;
- Cigana C. et al. "Azithromycin (AZM) inhibits Nuclear Factor-κB (NF-κB) activity and expression of interleukin 8 (IL8) in CF airway epithelial cells" Journal of Cystic Fibrosis 4 (2005) S26-S33; 28th European CF Conference - Crete, Greece: 22-25 June 2005;
- Cigana C. et al. "Effects of macrolides on interleukin 8 expression in cystic fibrosis airway epithelial cells" 4th National Conference SIICA; Brescia - June 8-11 2005;
- Cigana C. et al. "Regulation of pro-inflammatory transcription factors by azithromycin in Cystic Fibrosis airway epithelial cells" 2005 North American Cystic Fibrosis Conference - Baltimore, Maryland October 20-23 2005;
- Nicolis E. et al. "Meccanismi non antibiotici dell'Azitromicina: rilevanza per la terapia della fibrosi cistica" X Congresso Nazionale di Fibrosi Cistica - Palermo, 27-30 ottobre 2004
- Cigana C. et al. "Possible mechanisms of action of Azithromycin in cystic fibrosis" ERSNET, 2005
- Melotti P. "Detection of bacterial secretion variations among *Pseudomonas aeruginosa* strains by multidimensional protein identification technology" Rediscovering Biomarkers, San Diego, July 23-24 2007
- Bergamini G. et al. "Azithromycin (AZM) decreases Glutathione-S-Transferase (GST)-T1 and M1 (GSTM1) expression and activity in CF airway epithelial cells" North American Cystic Fibrosis Conference, Anaheim, California, 3-6 Oct. 2007
- Cigana C. et al. "Relevance of oxygen limitation on *Pseudomonas aeruginosa* strains: effects on released proteins expression" North American Cystic Fibrosis Conference, Anaheim, California, 3-6 Oct. 2007
- Cigana C. et al. "Mudpit analysis of *Pseudomonas aeruginosa* secretome: consequences of oxygen limitation in clinical and laboratory strains" 13th Italian Cystic Fibrosis Conference, Milan, 30 Nov. - 2 Dec. 2007, J. Cyst Fibrosis 2008; 7, suppl. 3: S16
- Cigana C. et al. "Proteins released from *Pseudomonas aeruginosa* (PA) referent and clinical strains under microaerobiosis and their effects on cystic fibrosis airways" 31st European CF Conference, Prague, June 11-14, 2008
- Melotti P. et al. "Effects of Azithromycin on regulation of metallo-proteases released by *Pseudomonas aeruginosa* (Pa) clinical strains"

NACFC 2012, Orlando, Florida, USA

- Melotti P. et al. "Molecular imaging of the anti-inflammatory effects of azithromycin in the lung" NACFC 2013, Salt Lake City, Utah, USA

- FFC Project# 7/2003 **"Proteomics of the airway surface liquid: implications for cystic fibrosis"**

Olga Zegarra Moran (Lab. Gen. Molec. - Ist. Gaslini - Genova), Giovanni Candiano (Lab. Nefrologia - Ist. "G. Gaslini" - Genova), Luca Bini (Dipart. Biologia Molecolare - Univ. Siena)

Publications

- Candiano G. et al. "Gelsolin secretion in interleukin 4 treated bronchial epithelia and in asthmatic airways" Am J Respir Crit Care Med. 2005; Vol 172 pp 1-7
- Candiano G. et al. "Proteomic analysis of the airway surface liquid: modulation by proinflammatory cytokines" Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2007 Jan;292(1):L185-98

Abstracts

- Zegarra-Moran O. et al., Proteomic analysis of the periciliary fluid in cultured human bronchial epithelial cells. Pediatr. Pulm. S25:182. Presented at the 17th Annual North American Cystic Fibrosis Conference. 2003 (Anaheim, U.S.A.)
- Zegarra-Moran O. et al., Increased gelsolin secretion in interleukin-4 treated bronchial epithelial cells and in asthmatic patient airways. Pediatr. Pulm. S27:146. 18th Annual North American Cystic Fibrosis Conference. 2004 (St. Louis, U.S.A.)
- Zegarra-Moran O., "Identification of components of innate defense in the airway surface fluid". ECFS Conference New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis (Tavira, Portugal), 15-19 April, 2009.

- FFC Project# 14/2004 **"Interaction in vitro between CF pathogens and epithelial cells expressing the CF transmembrane conductance regulator (CFTR)"**

Maria Cristina Dechechchi (Lab. Patologia Molecolare - Centro FC - Ospedale Civile Maggiore - Verona)

Publications

- Dechechchi M. C. et al. "MPB-07 reduces the inflammatory response to *Pseudomonas aeruginosa* in Cystic fibrosis bronchial cells" Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. May 2007, Vol. 36 PP. 615-624

Abstracts

- Dechechchi M. C. et al. "Uso di correttori del difetto di maturazione di CFTR come strategia per controllare la risposta infiammatoria all'infezione da *P. aeruginosa* in cellule epiteliali respiratorie" XII Congresso Italiano della Fibrosi Cistica, Montepaone (CZ), 29-31 maggio 2006
- Dechechchi M.C. et al. "Defective CFTR enhances PAO1-stimulated inflammatory response in epithelial cells" 2005 ECFS Conference - New frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis - 14 - 17 April, Portugal;
- Dechechchi M.C. et al. "Increased *Pseudomonas aeruginosa* induced inflammatory response in epithelial cells expressing mutated CFTR" Journal of Cystic Fibrosis 4 (2005) S17-S25; 28th European CF Conference, Heronissos, Crete, Greece; 22-25 June 2005
- Dechechchi M.C. et al. "The inflammatory response of CF airway cells to *pseudomonas Aeruginosa* is reduced by benzoquinolizinium compound MPB-07" Congresso NAFC 2006;

- FFC Project# 15/2004 **"Novel diagnostic and therapeutic approaches for CF"**

Roberto Gambari (Dipart. di Biochimica e Biologia Molecolare - Università di Ferrara)

Publications

- Bezzerri V. et al. "Transcription factor oligodeoxynucleotides to NF-kB Inhibit Transcription of IL-8 in Bronchial Cells" Am J Respir Cell Mol Biol. 2008 Jul;39(1):86-96
- Borgatti M. et al. "Induction of IL-6 gene expression in a CF bronchial epithelial cell line by *Pseudomonas aeruginosa* is dependent on transcription factors belonging to the Sp1 superfamily" BBRC 357 (2007) pp. 977-983.
- Piccagli L. et al. "Doking of molecules identified in bioactive medicinal plants extract into the p50 NF-kappaB transcription factor: correlation with inhibition of NF-kappaB/DNA interactions and inhibitory effects on IL-8 gene expression" BMC Structural Biology, 2008 Sep 3;8:38

Abstracts

- Bezzerri V. Et al. "Selective modulation of *P. Aeruginosa* dependent induction of interleukin-8 by transcription factor decoy oligonucleotides in CF bronchial epithelial cells" XX North American CF Conference, Denver 2-4 Nov. 2006

- FFC Project# 16/2004 **"Nasal polyps of Cystic Fibrosis patients as an ex vivo model to study inflammation and its modulation via the inhibition of the p-38 MAP-kinase pathway: implications for therapy"**

Valeria Raia (Dipart. Pediatria - Univ. Federico II Napoli), Giuseppe Castaldo (CEINGE - Biotec. Avanzate s.c.a.r.l. - Univ. Federico II Napoli)

Publications

- Raia V. et al. "Inhibition of p38 mitogen activated protein kinase controls airway inflammation in cystic fibrosis" Torax 2005; 60: 773-780;

- FFC Project# 11/2005 **"Chronic oxidative lung injury during cystic fibrosis - protective roles of gamma-glutamyltransferase and ascorbic acid"**

Alfonso Pompella (Dipart. Patologia Sperimentale, Biotec. Mediche, Infettivologia ed Epidemiologia - Univ. Pisa)

Publications

- Corti A. et al. "Vitamin C supply to bronchial epithelial cells linked to glutathione availability in elf-Arole for secreted -glutamyltransferase?" Journal of Cystic Fibrosis, 7 (2008) pp. 174-178.

- FFC Project# 15/2006 **"Contribution of alterations in metal and glutathione homeostasis to the bacterial infections typical of Cystic Fibrosis and examination of the possible protective role of lactoferrin and antioxidants"**

Andrea Battistoni (Dipart. Biologia - Univ. Tor Vergata - Roma)

Publications

- Berluti F. et al. "Bovine lactoferrin inhibits the efficiency of invasion of respiratory A549 cells of different iron-regulated morphological forms of *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cenocepacia*" Int J Immunopathol Pharmacol., 2008 Jan-Mar;21(1):51-9

- FFC Project# 16/2006 **"Effect of correctors of defective CFTR on the *Pseudomonas aeruginosa*-dependent inflammatory response in respiratory epithelial cells"**

Maria Cristina Dechechchi (Lab. Patologia Molecolare - Centro FC - Ospedale Civile Maggiore - Verona), Frederic Becq (Inst. De Physiologie Biologie Cellulaires - Poitiers (France), Roberto Gambari (Dipart. di Biochimica e Biologia Molecolare - Università di Ferrara)

Publications

- Dechechchi M. C. et al. "Anti-inflammatory effect of miglustat in bronchial epithelial cells" Journal of Cystic Fibrosis, 7 (2008) pp. 555-565

Abstracts

- Dechechchi M. C. et al. "Miglustat and DGJ reduce the inflammatory response to *Pseudomonas aeruginosa*, TNF-alpha and IL-1beta in bronchial epithelial cells" NACFC, 2007, Anaheim, California

- Dechechchi M. C. et al. "Correctors of F508del CFTR reduce the inflammatory response to *Pseudomonas aeruginosa* in CF respiratory epithelial cells" ECFS Conference 2007, Tavira, Algarve (Portugal), April 25-29

- Dechechchi M. C. et al. "Miglustat, an inhibitor of the synthesis of glycosphingolipids, has an anti-inflammatory signal *in vitro* and *in vivo*" Pediatric pulmonology, Suppl. 31, 2008. 22nd Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, 22-25 October 2008, pp. 257-258.

- Dechechchi M. C. et al. "Uso di correttori del difetto di maturazione di CFTR come strategia per controllare la risposta infiammatoria all'infezione da *P. aeruginosa* in cellule epiteliali respiratorie" XII Congresso Italiano della Fibrosi Cistica, 2006, Firenze, November 23-25.

- Dechechchi M. C. et al. "Anti-inflammatory effect of miglustat in bronchial cells" 13th Italian Cystic Fibrosis Conference, Milan, 30 Nov. - 2 Dec. 2007, J. Cyst Fibrosis 2008; 7, suppl. 3: p. S18

- Nicolis E. et al. "Inhibition of pro-inflammatory genes in CF bronchial epithelial cells by medicinal plant extracts" 13th Italian Cystic Fibrosis Conference, Milan, 30 Nov. - 2 Dec. 2007, J. Cyst Fibrosis 2008; 7, suppl. 3: p. S18

- Dechechchi M. C. et al. "Anti-inflammatory effect *in vitro* and *in vivo* of miglustat, an inhibitor of the synthesis of glycosphingolipids" XIV Congresso italiano della fibrosi cistica - IV Congresso nazionale Sifc, Torino, 27-29 novembre 2008

- FFC Project#5/2007 **"Novel particulate systems for the delivery of an oligonucleotide decoy to Nuclear Factor-kB: a potential strategy for treating cystic fibrosis"**

Fabiana Quaglia (Dipart. Chimica Tossicolo. E Farmaceutica - Univ. Federico II Napoli), Rosa Carnuccio (Dip.to di Farmacologia Sperimentale, Università di Napoli Federico II)

Publications

- Ungaro F. et al. "Engineering gas-foamed large porous particles for efficient local delivery of macromolecules to the lung" Eur J Pharm Sci. 2010 Sep 11;41(1):60-70

- De Stefano D. et al. "Sustained inhibition of IL-6 and IL-8 expression by decoy ODN to NF-kB delivered through respirable large porous particles in LPS-stimulated cystic fibrosis bronchial cells" J Gene Med. 2011 Apr;13(4):200-8

Abstracts

- Giovino C. et al. "Large Porous Particle for lung delivery of hydrophilic macromolecules: preliminary technological studies" 49th Simposio AFI, Rimini 10-12 giugno 2009

- Giovino C. "Veicolazione polmonare di un oligonucleotide decoy contro NF-Kb per il trattamento della fibrosi cistica: progettazione e sviluppo di Large Porous Particles a base di PLGA" 8° Scuola avanzata per Dottorandi di ricerca del settore farmaceutico tecnologico applicativo, Recent ignali in vesicle drug carriers, Università della Calabria, Arcavacata di Rende, 22-27 settembre 2008
- Giovino C. et al. "Design and development of microsphere-loaded drug eluting stents for the controlled release of the antirestenosis agents" AAPA Italian University Network, Fisciano, March 6-7, 2009
- De Stefano D. Et al. "ODN decoy to NF-KB released from respirable PLGA large porous particles: a potential for treating cystic fibrosis?" 34° National Congress of the Italian Pharmacology Society, Rimini, October 14-17, 2009
- Govino C. et al. "A new approach for cystic fibrosis treatment: large porous particles for local and prolonged delivery of an oligonucleotide decoy to Nuclear Factor-kB in the lung" AAPS Annual Meeting and Exposition, Los Angeles, California, November 8-12, 2009
- Ungaro F. et al. "Biodegradable particles for local and prolonged delivery of an oligonucleotide decoy to nuclear factor- B in the lung" In Dalby, R.N., Byron, P.R., Peart, J., Suman, J.D., Young, P.M. (Eds.) *RDD Europe 2011, Book 2*, pp. 511-513. Poster on the podium" at RDD Europe 2011, Berlin, Germany
- Giovino C. et al. "Inhalable large porous particles for local and prolonged delivery of an oligonucleotide decoy to NF- B in cystic fibrosis" 4th AitUN Annual Meeting - Innovation in Pharmaceutics: a glimpse in the Biotech world, Napoli
- Giovino C. et al. "Respirable large porous particles for local and prolonged delivery of an oligonucleotide decoy to nuclear factor-kb: in vitro/in vivo potential in cystic fibrosis" International Meeting on "Lactose as a Carrier for Inhalation Products", September 26-28, 2010, Parma, Italy
- FFC Project# 13/2007 **"A gene-targeted anti-inflammatory approach based on the Transcription Factor "decoy" strategy"**
Giulio Cabrini (Lab. Patologia Molecolare - Centro FC - Ospedale Civile Maggiore - Verona), Roberto Gambari (Dipart. di Biochimica e Biologia Molecolare - Università di Ferrara)

Publications

- Bezzerrini V. et al. "Transcription Factor Oligodeoxynucleotides to NF-kB Inhibit Transcription of IL-8 in Bronchial Cells" Am J Respir Cell Mol Biol. 2008 Jul;39(1):86-96
- Nicolis E. et al. "Pyrogallol, an active compound from the medicinal plant Emblica officinalis, regulates expression of pro-inflammatory genes in bronchial epithelial cells" Int Immunopharmacol. 2008 Dec 10;8(12):1672-80
- Piccagli L. et al. "Doking of molecules identified in bioactive medicinal plants extract into the p50 NF-kappaB transcription factor: correlation with inhibition of NF-kappaB/DNA interactions and inhibitory effects on IL-8 gene expression" BMC Structural Biology, 2008 Sep 3;8:38
- Gambari R. et al. "Decoy oligodeoxyribonucleotides and peptide nucleic acids-DNA chimeras targeting nuclear facto kappa-B: inhibition of IL-8 gene expression in Cystic Fibrosis cells infected with *Pseudomonas aeruginosa*" Biochem. Pharmacol. (2010), doi: 10.1016/j.bcp.2010.06.047
- Cabrini G. et al. "Targeting transcription factor activity as a strategy to inhibit pro-inflammatory genes involved in Cystic Fibrosis: decoy oligonucleotides and low-molecular weight compounds" Current Medicinal Chemistry, 2010, 17(35):4392-404
- Finotti A. et al. "Effects of decoy molecules targeting NfkappaB transcription factors in cystic fibrosis UB3-1 cells" Artif DNA PNA XNA. 2012 April 1; 3(2): 97-296.

Abstracts

- Bezzerrini V. Et al. "Transcription factor (TF) decoy strategy to silence expression of pro-inflammatory genes in cystic fibrosis (CF) bronchial epithelial cell line" 2nd European CF Young Investigator Meeting, 2008, Lille, France
- Cabrini G. et al. " "Decoy" molecules for nuclear transcription factors and regulation of expression of proinflammatory genes" 13th Italian Cystic Fibrosis Conference, Milan, 30 Nov. - 2 Dec. 2007, J. Cyst Fibrosis 2008; 7, suppl. 3: pp. S18.
- Nicolis E. et al. "Isolation of active anti-inflammatory compounds from medicinal plant extracts" Pediatric pulmunology, Suppl. 31, 2008. 22nd Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, 22-25 October 2008, p. 259.
- Tamanini A. et al. "Effect of furocumarin derivatives on *P. aeruginosa*-dependent pro-inflammatory response in bronchial epithelial cells" Pediatric pulmunology, Suppl. 31, 2008. 22nd Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, 22-25 October 2008, pp. 260-261.
- Nicolis E. et al. "Does anti-inflammatory treatment have any effect on PAO1 dependent induction of the antimicrobial genes?" Pediatric pulmunology, Suppl. 31, 2008. 22nd Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, 22-25 October 2008, pp. 261-262.
- Piccagli L. et al. "Anti-inflammatory molecules obtained from virtu-

al screening of a furocoumarin database against NF-kB" 23rd Annual North American Cystic Fibrosis Congress, Minneapolis, Minnesota, 15-17 October 2009

- Nicolis E. et al. "Nigella arvensis extract inhibits the induction of IL-8 gene in bronchial epithelial cells" 23rd Annual North American Cystic Fibrosis Congress, Minneapolis, Minnesota, 15-17 October 2009
- Tamanini A. et al. "Combined effects of furocoumarin compounds as anti-inflammatory and CFTR potentiation in CALU-3 epithelial cells" 23rd Annual North American Cystic Fibrosis Congress, Minneapolis, Minnesota, 15-17 October 2009

- FFC Project #14/2007 **"Influence of CFTR mutations in bactericidal activity of human macrophages"**

Paola Del Porto (Dipart. di Biologia Cellulare e dello Sviluppo - Università "La Sapienza", Roma), Fiorentina Ascenzioni (Dipart. di Biologia Cellulare e dello Sviluppo - Università "La Sapienza", Roma), Serena Quattrucci (Centro Regionale FC - Policlinico "Umberto I", Roma)

Abstracts

- Soccia V. et al. "Influence of CFTR mutations on bactericidal activity of human macrophages" 32nd European Cystic Fibrosis Conference, Brest, France 10 - 13 June 2009 (awarded as best poster in "Inflammation")
- Soccia V. et al. "Espressione del CFTR ed attività battericida dei macrofagi umani" XV Congresso Italiano della Fibrosi Cistica, V Congresso Nazionale SIFC, 1-4 Ottobre 2009 Soverato, Italia (Premio Annalisa Marzotto)

- FFC Project #15/2007 **"Mechanisms of inflammation resolution in cystic fibrosis"**

Mario Romano (Dip. Scienze Biomediche - CeSI - Univ. "G. D'Annunzio" di Chieti)

Publications

- Mattoscio D. et al. "Cystic Fibrosis Transmembrane conductance regulator (CFTR) expression in human platelets: impacts on mediators and mechanisms of the inflammatory response" The Faseb J., 2010 June, doi: 10.1096/fj.10-159921
- Pieroni L et al "Proteomics investigation of human platelets in healthy donors and cystic fibrosis patients by shotgun nUPLC-MS^E and 2DE: a comparative study" Mol BioSystems 12 Nov 2010 doi:10.1039/COMB00135J
- Simiele F. et al. "Transcriptional regulation of the human FPR2/ALX gene: evidence of a heritable genetic variant that impairs promoter activity" FASEB J. 2012 Mar;26(3):1323-33. Epub 2011 Nov 30

- FFC Project# 11/2008 **"Effect of glutathione and lactoferrin on redox regulation, metal homeostasis and inflammatory responses of Cystic Fibrosis bronchial cells upon infection with Burkholderia cenocepacia"**

Andrea Battistoni (Dipart. Biologia - Univ. Tor Vergata - Roma)

Publications

- Valenti P et al. "Lactoferrin decreases inflammatory response in cystic fibrosis bronchial cells invaded by iron modulated biofilm of Burkholderia cenocepacia strains" Submitted to Microbes and Infections (Manuscript Number: MICINF-D-10-00030)
- Ciavardelli D. et al. "Proteomic and ionomic profiling reveals significant alterations of protein expression and calcium homeostasis in cystic fibrosis cells" Mol Biosyst. 2013 Jun 7;9(6):1117-26

Abstracts

- Berluti F. et al "Lactoferrin modulates gene expressionof cystic fibrosis bronchial cells invaded by iron and zinc modulated biofilm of Burkholderia cenocepacia clinical isolates" IXth International Lactoferrin Conference, Beijing, China, October 18-22, 2009.
- Ammendolia MG. et al "Bovine lactoferrin interacts with cable pili of Burkholderia cenocepacia" IXth International Lactoferrin Conference, Beijing, China, October 18-22, 2009
- Ciavardelli D. et al. "Proteomics and ionomics profiling reveals significant alteration of 14-3-3 signalling pathway and calcium homeostasis in cystic fibrosis cells" VII Italian Proteomic Association (ItPA) Annual Congress, Viterbo, June 12-15, 2012

- FFC Project#12/2008 **"Anti-inflammatory effect of miglustat: sphingolipid ceramide metabolism as a therapeutic target for CF lung disease"**

Maria Cristina Dechechchi (Lab. di Patologia Molecolare, Lab. Analisi Chimico-Cliniche ed Ematologiche, Università di Verona), Roberto Gambari (Dipart. di Biochimica e Biologia Molecolare, Università di Ferrara)

Publications

- Dechechchi MC. et al. "Anti-inflammatory effect of miglustat in bronchial epithelial cells" J Cyst Fibros. 2008 Nov;7(6):555-65
- Dechechchi MC. et al. "Modulators of Sphingolipid metabolism reduce lung inflammation" Am J Respir Cell Mol Biol. 2011 Oct;45(4):825-33

Abstracts

- Dechechchi M.C. et al. "Anti-inflammatory effect of miglustat: sphingolipid metabolism as a therapeutic target for CF lung inflammation" 23rd Annual North American Cystic Fibrosis Congress, Minneapolis, Minnesota, 15-17 October 2009
- Dechechchi M.C. et al. "Lack of efficacy of dexamethasone in reducing the inflammatory response to *P. aeruginosa* in a cell line derived from bronchial epithelium of a CF patient" 23rd Annual North American Cystic Fibrosis Congress, Minneapolis, Minnesota, 15-17 October 2009
- Dechechchi M.C. et al. "Modulation of sphingolipids metabolism reduces the neutrophil chemotaxis in human and murine respiratory models in vivo and in vitro" 2010 ECFS Basic Science Conference "New frontiers in Basic Science in Cystic Fibrosis" 7-10 April 2010, Carcavelos, Portugal
- Dechechchi M.C. et al "Down modulation of neutrophil chemotactic signalling by targeting the metabolism of sphingolipids" *Pediatr. Pulmonol.* 2010 44th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Baltimore, MD, U.S.A., 2010
- Dechechchi MC et al "Modulation of sphingolipids metabolism reduces the neutrophil chemotaxis in human and murine respiratory models in vitro and in vivo" 1° Conferenza Aziendale sulla Ricerca: La patologia Polmonare - Verona, 25 maggio 2010

- FFC Project#13/2008 **"Pre-clinical evaluation of new vitamin E-based anti-inflammatory agents in CF"**

Francesco Galli (Dipart. Med. Interna - Sez. Bioch. Appl. E Scienze Nutrizionali - Univ. Perugia), Luigi Iuliano (Dipart. Med. Interna e vascolare - Univ. La Sapienza Roma), Claudia Bettina Schock (Queen's University Belfast, Respiratory Medicine Research Group), Gianfrancesco Goracci (Dipart. Med. Interna - Sez. Biochimica - Univ. Perugia)

Publications

- Iuliano L. et al. "Association of cholesterol oxidation and abnormalities in fatty acid metabolism in cystic fibrosis" *Am J Clin Nutr.* July, 2009 Sep;90(3):477-84
- Galli F. et al. "La supplementazione umana con vitamina E" *Progress in Nutrition*, Vol. 12, N. 3, 00-00, 2010
- Mazzini F. et al. "Anticancer Activity of Vitamin E-Derived Compounds in Murine C6 Glioma Cells" *Chem. Med. Chem.* 2010, 5, 540-543.

- FFC Project#14/2008 **"Infections in cystic fibrosis: role of the long pentraxin PTX3 in host resistance and as therapeutic agent"**

Cecilia Garlenda (Fondazione Humanitas per la Ricerca, Rozzano, Milano), Alessandra Bragonzi (Divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie infettive - Istituto San Raffaele, Milano)

Publications

- Bragonzi A. et al. "Pseudomonas aeruginosa microevolution during cystic fibrosis lung infection establishes clones with adapted virulence" *Am J Respir Crit Care Med.* 2009 Jul 15; 180 (2): 138-45
- Moalli F. et al. "Role of Complement and Fc R in the protective activity of the long pentraxin PTX3 against *Aspergillus fumigatus*" *Blood.* 2010 Dec 9; 116(24):5170-80
- Moalli F. et al. "Therapeutic potential of the humoral pattern recognition receptor PTX3 in chronic lung infection by Pseudomonas aeruginosa" (manuscript in preparation)
- Bottazzi B. et al. "The long pentraxin PTX3 as a prototypic humoral pattern recognition receptor: interplay with cellular innate immunity" *Immunol Rev.* 2009 Jan; 227 (1):9-18
- Bottazzi B. et al "An integrated view of humoral innate immunity: pentraxins as a paradigm" *Annu Rev Immunol.* 2010 Mar; 28:157-83

Abstracts

- Moalli F. et al. "Role of the long pentraxin PTX3 in chronic lung infection by Pseudomonas aeruginosa", Bari 2010
- Moalli F et al "The opsonic activity of the long pentraxin PTX3 for Aspergillus fumigatus conidia is complement-dependent and mediated by FcgammaR-dependent CR3 integrin activation"
- Moalli F et al "Therapeutic potential of the humoral pattern recognition receptor PTX3 in chronic lung infection by Pseudomonas aeruginosa" Innochem
- Moalli F et al "Therapeutic potential of the humoral pattern recognition receptor PTX3 in chronic lung infection by Pseudomonas aeruginosa" Roma
- Moalli F et al "Potenziale terapeutico della pentrassina lunga PTX3 nelle infezioni croniche indotte da Pseudomonas aeruginosa" Firenze
- Moalli F et al "Role of the long pentraxin PTX3 in chronic lung infection by Pseudomonas aeruginosa" Capo Caccia 2010
- Moalli F et al "Role of complement and FcgammaR in the protective activity of the long pentraxin PTX3 against Aspergillus fumigatus" Rome, 4-6 February 2010
- Paroni M et al "Therapeutic potential of the humoral pattern recognition protein PTX3 in a murine model of Pseudomonas aeruginosa chronic infection" The 22nd Annual NACFC, Orlando October 23-25 2008

- FFC Project#15/2008 **"Effects of azithromycin (AZM) on Pseudomonas-induced chronic lung inflammation in cystic fibrosis"**

Teresinha Leal (Department of Clinical Chemistry, Université Catholique de Louvain, St. Luc University Hospital) Pierluigi Mauri (Ist. Tecnologie Biomediche CNR, Segrate Milano), Claudio Sorio (Dipart. Patologia, Patologia Generale, Università di Verona)

Publications

- Sorio C. et al. "The role of macrophages and their scavenger receptors in cystic fibrosis", 2009 *J Leukoc Biol.* Sep;86 (3) 465-8.
- Bergamini G. et al. "Pseudomonas aeruginosa released proteins: effects on cystic fibrosis airways and consequences of oxygen limitation in clinical and laboratory strains" (2010) Submitted
- Bergamini G. et al. "MudPIT analysis of released proteins in Pseudomonas aeruginosa laboratory and clinical strains in relation to pro-inflammatory effects" *Integr Biol (Camb).* 2012 Mar;4(3):270-9

Abstracts

- Cigana C. et al. "Proteins released from *Pseudomonas aeruginosa* (Pa) referent and clinical strains under microaerobiosis and their effects on cystic fibrosis airways" 31st European Cystic Fibrosis Conference, 11-14 June 2008, Prague, Czech Republic, *J Cystic Fibrosis*, vol. 7 (2), June 2008.
- Cigana C et al. "MudPIT analysis of *Pseudomonas aeruginosa* secretome: consequences of oxygen limitation in clinical and laboratory strains" 31st European Cystic Fibrosis Conference, 11-14 June 2008, Prague, Czech Republic, *J Cystic Fibrosis*, vol. 7 (3), June 2008 pp. S16
- Bergamini G. et al. "Proteomic analysis of proteins released from *Pseudomonas aeruginosa* clinical and laboratory strains: effect of azithromycin" 23rd Annual North American Cystic Fibrosis Congress, Minneapolis, Minnesota, 15-17 October 2009
- Bergamini et al. "Proteomic analysis of proteins released from *Pseudomonas aeruginosa* clinical and laboratory strains: effects of azithromycin" New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis. Tavira (Portugal), April 15-19 (2009) *Journal of Cystic Fibrosis*, (2009) Vol 9, Supplement 1, p. S40
- Bergamini G et al. "Proteomic analysis of proteins released from *Pseudomonas aeruginosa* clinical and laboratory strains: effects of azithromycin." *Pediatric Pulmonology*, (2009)Vol 44, Supplement 32, p 242.
- Melotti P. et al. "Effects of Azithromycin on regulation of metalloproteases released by *Pseudomonas aeruginosa* (Pa) clinical strains" NACFC 2012, Orlando, Florida, USA

- FFC Project#5/2009 **"Functional evaluation of CFTR in blood leukocytes in human subjects as a new tool for diagnostic and clinical research applications"**

Claudio Sorio (Dipart. Patologia, Patologia Generale, Università di Verona), Paola Melotti (Lab. Patologia Molecolare - Centro FC - Ospedale Civile Maggiore - Verona), Mario Rosario Buffelli (Dipartimento di Scienze Neurologiche e della Visione- Sez. Fisiologia, Policlinico Verona)

Publications

- Melotti P. et al. "Evaluation of Cystic Fibrosis Conductance Transmembrane Regulator (CFTR) expression and activity in human monocytes and possible clinical application" Submitted for publication
- Sorio C. et al. "Defective CFTR expression and function are detectable in blood monocytes: development of a new blood test for cystic fibrosis" *PloS One*, 2011; 6(7): e22212. Published online 2011 July 21

Abstracts

- Sorio C. et al. "Defective CFTR expression and function are detectable in blood monocytes: development of a new blood test for cystic fibrosis" Young Investigators Meeting, Lille (France) August 2010
- Sorio C. et al. "Analysis of CFTR function in human monocytes" European Respiratory Society Annual Congress held in Barcelona (Spain) in September 2010, abstract # 251869
- Sorio C. et al. "Functional evaluation of Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) in human monocytes" *J Cystic Fibrosis* vol. 8, suppl. 2, June 2009: S22, abstract # 86.
- Sorio C. et al. "Measurement of CFTR expression and function in human leukocytes: new assays for the management of Cystic Fibrosis" *Pediatric Pulmonology* suppl. 33, 2010: 287, abstract # 192
- Sorio C. et al. "Defective CFTR expression and function are detectable in human monocytes: a potential new blood test for cystic fibrosis" FEBS Workshop on "Cell Biology and Pharmacology of Mendelian Disorders", Vico Equense, Napoli, Italy, 7-11 October 2011

- FFC#17/2009 **"Immune evasion strategies underlining the adaptation of Pseudomonas aeruginosa to the airways of cystic fibrosis patients"**

Maria Lina Bernardini (Dipartimento di Biologia Cellulare e dello Sviluppo Università "La Sapienza" Roma), Antonio Molinaro (Dipartimento di Chimica organica e Biochimica - Università degli Studi di Napoli), Allaoui Abdelmounaim (Laboratorio di Batteriologia Molecolare - Facoltà di Medicina - Libera Università di Bruxelles)

Publications

- Cigana C. et al. "Dampening Host Sensing and Avoiding Recognition in *Pseudomonas aeruginosa* Pneumonia" J Biomed Biotechnol. 2011;2011:852513
- FFC Project#19/2009 **"Role of CFTR-Connexin interaction on PGE2 signaling and inflammation: implication for cystic fibrosis"**
Marc Chanson (Dip. Pediatria - Università di Ginevra), Maria Cristina Dechechchi (Lab. di Patologia Molecolare, Lab. Analisi Chimico-Cliniche ed Ematologiche, Azienda Ospedaliero Universitaria di Verona)

Publications

- Scheckenbach KE L. et al. "PGE2 Regulation of CFTR activity and air surface liquid volume requires Gap Junctional Communication" doi: 10.1165/rcms.2009-0361OC
- Losa D. et al., "Connexins as therapeutic targets in lung disease" Expert Opin Ther Targets 2011;15:989-1002. Review

Abstracts

- Losa D. et al., "Gap Junctions Contribute To Airway Surface Liquid Homeostasis in Human Airway Epithelial Cells" April 07-10 2010 Carcavelos, Portugal. ECFS Basic Science Conference, oral presentation by Losa Davide (Novartis Young Fellows Travel Award)
- Chanson M. et al., "PGE2 Regulation of CFTR Activity and Airway Surface Liquid Volume Requires Gap Junctional Communication" August 08-13 2010 Saxtons River, Vermont, USA. FASEB Summer Research Conferences "The Lung Epithelium in Health and Disease", poster presentation
- Losa D. et al., "Pseudomonas aeruginosa Increase Gap Junction Channels In Calu-3 Cells By A TLR5-Dependent Mechanism" March 30 to April 2 2011 Tirrenia-Pisa, Italy. ECFS Basic Science Conference, poster presentation
- Losa D. et al., "Cx43 participates in the airway epithelium defense against Pseudomonas aeruginosa infection by a TLR5-dependent mechanism" August 6-11 2011 Ghent, Belgium. International Gap Junction Conference, oral presentation
- Losa D. et al., "Cx43 participates in the airway epithelium defense against Pseudomonas aeruginosa infection by a TLR5-dependent mechanism" September 6 2011 Bern, Switzerland. Annual Meeting of the Swiss Physiological Society, oral presentation by Losa Davide ("Asher-Hess Prize - Young Investigator Award" for the best oral presentation)

- FFC Project#20/2009 **"Genetic and pharmacological validation of PI3K as a drug-target for the treatment of airway inflammation in CF"**
Virginia De Rose (Dip. Scienze Cliniche e Biologiche , Divisione Malattie Respiratorie - Università di Torino, AUO S. Luigi), Emilio Hirsh (Centro di Biotecnologia Molecolare - Torino), Gerd Döring (Istituto di Microbiologia Medica e Igiene - Università di Tübingen)

Publications

- Galluzzo M. et al. "Genetic Deletion and Pharmacological Inhibition of PI3K Reduces Neutrophilic Airway Inflammation and Lung" Mediators of Inflammation, Volume 2015, Article ID 545417, 10 pages

- FFC Project# 21/2009 **"Mechanisms of bactericidal activity of human macrophages and influence of CFTR mutations"**
Paola Del Porto (Dipartimento di Biologia cellulare e dello Sviluppo - Università degli Studi "La Sapienza" - Roma); Fiorentina Ascenzianni (Dipartimento di Biologia cellulare e dello Sviluppo - Università degli Studi "La Sapienza" - Roma); Serena Quattrucci (Centro Fibrosi Cistica, Dip. Pediatria - Università di Roma "La Sapienza")

Publications

- Del Porto P. et al. "Dysfunctional CFTR Alters the Bactericidal Activity of Human Macrophages against *Pseudomonas aeruginosa*" PLoS One.6(5):e19970
- Cifani N. et al. "Reactive-oxygen-species-mediated P. aeruginosa killing is functional in human cystic fibrosis macrophages" PLoS One. 2013 Aug 19;8(8):e71717. doi: 10.1371/journal.pone.0071717.

Abstracts

- Cifani N. et al., Bactericidal activity of human CF macrophages against *Pseudomonas aeruginosa*. 34th European Cystic Fibrosis Conference; 8-11 June 2011; Hamburg Germany
- FFC Project# 22/2009 **"Origin of lung fluid gamma-glutamyltransferase and its effects in modulation of antioxidant balance, inflammation and CF respiratory dysfunction"**
Alfonso Pompella (Dipart. Patologia Sperimentale, Biotec. Mediche, Infettivologia ed Epidemiologia - Univ. Pisa)

Publications

- Bergamini G et al "Effects of azithromycin (AZM) on glutathione-s-transferases (GST)s in cystic fibrosis airway cells" Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol. 41: 199-206, 2009
- Bramanti E et al "Exogenous vs. endogenous g-glutamyltransferase activity: implications for the specific determination of S-nitrosoglutathione in biological samples" Arch. Biochem. Biophys. 487: 146-52, 2009

- Bramanti E et al "The determination of S-nitrosothiols in biological samples - procedures, problems and precautions" Life Sci. 2010 (in press)
- Corti A. et al. "Contribution by plasmaphonucleate granulocytes to elevated Gamma-glutamyltransferase in cystic fibrosis sputum" PLoS One. 2012;7(4):e34772. Epub 2012 Apr 4.
- Corti A. et al. " γ -Glutamyltransferase catabolism of S-nitrosoglutathione modulates IL-8 expression in cystic fibrosis bronchial epithelial cells" Free Radic Biol Med. 2013 Jun 29;65C:360-370.
- Corti A. et al. "Cystic fibrosis elevated gamma-glutamyltransferase, and lung transplant outcome" Transplant International 2012; 25:e123-e124

- FFC Project# 11/2010 **"Development of new therapeutic approaches against microbial infection in cystic fibrosis patients: biochemical analysis of cell wall fragments"**

Antonio Molinaro (Dip. Chimica Organica e Biochimica, Università di Napoli), Maria Lina Bernardini (Dip. Biologia Cellulare e dello Sviluppo, Università La Sapienza, Roma), Gerd Döring (Institute of Medical Microbiology and Hygiene, University of Tübingen)

Publications

- Ieranò T. et al. "Molecular Modeling Study of the Carbohydrate region of the Endotoxin from *Burkholderia cenocepacia* ET-12", Eur. J. Org. Chem. 2011, 5114-5122
- Loutet S. A. et al. "Transcriptional responses of *Burkholderia cenocepacia* to polymyxin B in isogenic strains with diverse polymyxin B resistance phenotypes", BMC Genomics 2011, 12:472
- De Castro C. et al. "Bacterial Lipopolysaccharides in plant and mammalian innate immunity" Protein Pept Lett. 2012 Oct 1;19(10):1040-4
- Hamad MA. Et al. "Aminoarabinose modification of the *Burkholderia cenocepacia* lipopolysaccharide (LPS) is essential for intrinsic antimicrobial peptide resistance and proper functioning of the LPS export pathway" Mol Microbiol. 2012 Sep;85(5):962-74
- Marchetti R. et al. "*Burkholderia cenocepacia* lectin A binding to heptoses from the bacterial lipopolysaccharide" Glycobiology, 2012 Oct;22(10):1387-98

- FFC Project#12/2010 **"Calcium signal and PKC as targets of *Pseudomonas aeruginosa* infection"**

Paolo Pinton (Dip. Medicina Sperimentale e Diagnostica, Univ. Ferrara)

Publications

- Paterniani S. et al. "Calcium signaling around Mitochondria Associated Membranes (MAMs)" Cell Commun Signal 2011, 9:19
- Giorgi C. et al. "Mitochondria associated membranes (MAMs) as critical hubs for apoptosis" Communicative&Integrative Biology 4:3, 334-335; May-June 2011
- Giorgi C. et al. "Mitochondrial calcium homeostasis as potential target for mitochondrial medicine" Mitochondrion. 2012 Jan;12(1):77-85
- Bononi A. et al. "Protein Kinases and phosphatase in the Control of cell fate" Enzyme Research 2011;2011:329098. Epub 2011 Sep 4.
- Suski J. Et al. "p66Shc aging protein in control of fibroblasts cell fate" Int. J. Mol. Sci. 2011;12(8):5373-89. Epub 2011 Aug 22.
- Giorgi C. et al. "Translocation of signalling proteins to the plasma membrane revealed by a new bioluminescent procedure" BMC Cell Biology 2011, 12:27
- Suski J. et al. "Mitochondrial tolerance to drugs and toxic agents in ageing and disease" Current Drug Targets, 2011, 12, 827-849
- Pinton P. et al. "The role of PML in the control of apoptotic cell fate: a new key player at ER-mitochondria sites" Cell Death and Differentiation (2011) 18, 1450-1456
- Bezzerra V. et al. "Phospholipase C-{beta}3 is a key modulator of IL-8 expression in cystic fibrosis bronchial epithelial cells" J Immunol 186(8):4946-58
- Bononi A. et al. "Mitochondria-associated membranes (MAMs) as hotspot Ca²⁺ Signaling units" Adv Exp Med Biol 740:411-38
- Marchi S. et al. "Mitochondria-ROS crosstalk in the control of cell death and aging" J Signal Transduct 2012;329635
- Rimessi A. et al. "The selective inhibition of nuclear PKC ζ restores the effectiveness of chemotherapeutic agents in chemoresistant cells" Cell Cycle 11(5):1040-48
- Anelli T. et al. "Ero1 α Regulates Ca²⁺ Fluxes at the Endoplasmic Reticulum-Mitochondria Interface (MAM)" Antioxid Redox Signal 16(10):1077-87
- Bonora M. et al. "ATP synthesis and storage" Purinergic Signalling, 8:343-357
- Giorgi C. et al. "Mitochondrial Ca²⁺ and apoptosis" Cell Calcium 52:36-43.
- Marchi S. et al. Selective modulation of subtype III IP3R by Akt regulates ER Ca²⁺ release and apoptosis" Cell Death Dis 3:e304
- Diogo C.V. et al. "Cardiac mitochondrial dysfunction during hyperglycaemia: the role of oxidative stress and p66Shc signaling" Int J Biochem Cell Biol. 2012 Jul 31
- Lebiedzinska M. et al. "Disrupted ATP synthase activity and mitochondrial hyperpolarisationdependent oxidative stress is associated

- with p66Shc phosphorylation in fibroblasts of NARP patients" *Int J Biochem Cell Biol.* 2012 Jul 31
- Bressan E. et al. "Donor age-related biological properties of human dental pulp stem cells change in nanostructured scaffolds" *PLoS One.* 2012;7(11):e49146.
 - Suski JM et al. "Guanosine diphosphate exerts a lower effect on superoxide release from mitochondrial matrix in the brains of uncoupling protein-2 knockout mice: New evidence for a putative novel function of uncoupling proteins as superoxide anion transporters" *Biochem Biophys Res Commun.* 2012 Nov 16;428(2):234-8.
 - Chiabrando D. et al. "The mitochondrial heme exporter FLVCR1b mediates erythroid differentiation" *Gastroenterology.* 2014 May;146(5):1325-38.
 - Patergnani S. et al. "PRKCB/protein kinase C, beta and the mitochondrial axis as key regulators of autophagy" *Autophagy.* 2013 Sep;9(9):1367-85.
 - Bononi A. et al. "Identification of PTEN at the ER and MAMs and its regulation of Ca(2+) signaling and apoptosis in a protein phosphatase-dependent manner" *Cell Death Differ.* 2013 Dec;20(12):1631-43
 - Marchi S. et al. "Downregulation of the mitochondrial calcium uniporter by cancer-related miR-25" *Curr Biol.* 2013 Jan 7;23(1):58-63
 - Rimessi A. et al. "H-Ras-driven tumoral maintenance is sustained through caveolin-1-dependent alterations in calcium signaling" *Oncogene.* 2014 May 1;33(18):2329-40
- FFC Project#15/2010 **"Evaluation of the usefulness of therapeutic approaches aiming at increasing glutathione levels in the airways of Cystic Fibrosis patients to control lung infections and bacterial-induced damage"**
Andrea Battistoni (Dip. Biologia, Università di Roma Tor Vergata, Roma)

Publications

- D'Orazio M. et al. "Extracellular Glutathione Decreases the Ability of Burkholderia cenocepacia to Penetrate into Epithelial Cells and to Induce an Inflammatory Response" *PLoS One.* 2012;7(10):e47550
- Pacello F. et al. "An ERp57-mediated disulphide exchange promotes the interaction between Burkholderia cenocepacia and epithelial respiratory cells" *Sci Rep.* 2016 Feb 16;6:21140

Abstracts

- Ciavardelli D. et al. "Proteomics and ionomics profiling reveals significant alterations of 14-3-3 signalling pathway and calcium homeostasis in cystic fibrosis cells"
- FFC Project#16/2010 **"Modulation of sphingolipid metabolism as a strategy for the treatment of CF lung inflammation"**
Maria Cristina Dechechchi (Lab Patologia Molecolare, Lab Analisi chimico Cliniche ed Ematologiche, Az Osp Univ, Verona); Roberto Gambari (Dip. Biochimica e Biologia Molecolare - Univ Ferrara)

Publications

- Dechechchi MC. et al., "Modulators of Sphingolipid Metabolism Reduce Lung Inflammation" *Am J Respir Cell Mol Biol.* *In press*
- Dechechchi MC. et al., "Pharmacological modulators of sphingolipid metabolism for the treatment of cystic fibrosis lung inflammation" In: *Cystic Fibrosis.* ISBN 979-953-307-059-8, edited by: Dr. Dinesh D. Sriramulu, Germany
- Galli F. et al. "Oxidative stress and antioxidant therapy in cystic fibrosis" *Biochim Biophys Acta.* 2012 May;1822(5):690-713

Abstracts

- Dechechchi MC. et al., "Down modulation of neutrophil chemotactic signalling by targeting the metabolism of sphingolipids" *Pediatr. Pulmonol.* 2010, 24th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Baltimore, MD, U.S.A., 2010 (poster)
- Dechechchi MC. et al., "Down modulation of neutrophil chemotactic signalling by targeting the metabolism of sphingolipids" *Pediatr. Pulmonol.* 2010 24th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Baltimore, MD, U.S.A., 2010
- Dechechchi MC. et al., "Down modulation of neutrophil chemotactic signalling by targeting the metabolism of sphingolipids" *Pediatr. Pulmonol.* 2010 24th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Baltimore, MD, U.S.A., 2010
- Dechechchi MC. et al. "Inhibitors of glucosylceramide synthase (GlcCerT) reduce the transcription of IL-8 induced by *P. aeruginosa* in CF bronchial cells" ECFC Basic Science Conference Tirrenia - Pisa, Italy 30 March - 2 April 2011
- Dechechchi MC. et al., "Inhibitors of glucosylceramide synthase (GlcCerT) reduce the transcription of IL-8 induced by *P. aeruginosa* in CF bronchial cells" *New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis.* Tirrenia (Pisa), 30 March-2 April 2011
- Tebon M. et al. "Miglustat reduces lung inflammation in vitro and in vivo", 5th European CF Young Investigator Meeting, Lille, France, 23 - 26 August 2011
- Dechechchi MC. et al., "Anti-inflammatory effect of miglustat: sphingolipid metabolism as a therapeutic target for cystic fibrosis lung inflammation" FEBS Workshop: Cell Biology and Pharmacology of Mendelian Disorders, Vico Equense (Naples), 7-11 october 2011.
- Dechechchi MC. et al., "Inhibitors of glucosylceramide synthase

(GlcCerT) reduce the transcription of IL-8 induced by *P. aeruginosa* in CF bronchial cells" *New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis.* Tirrenia (Pisa), 30 March-2 April 2011

- Tebon M. et al., "Miglustat reduces lung inflammation in vitro and in vivo" 5th European CF Young Investigator Meeting, Lille, France, 23-26 August 2011
- Dechechchi MC. et al., "Anti-inflammatory effect of miglustat: sphingolipid metabolism as a therapeutic target for cystic fibrosis lung inflammation" FEBS Workshop: Cell Biology and Pharmacology of Mendelian Disorders, Vico Equense (Naples), 7-11 october 2011.
- Tebon M. et al. "Targeting enzymes involved in the metabolism of glucosylceramide to modulate transcription of IL-8 gene in CF epithelial cells" 9th ECFS Basic Science Conference, Sainte-Maxime, France from 28 March - 1 April 2012
- Dechechchi C. et al. "Inhibitors of glucosylceramide synthase (GlcCerT) reduce the transcription of IL-8 induced by *P. aeruginosa* in CF bronchial cells" 9th ECFS Basic Science Conference, 24 March-1 April 2012, Sainte-Maxime, France
- Dechechchi C. et al. "Iminosugar-based inhibitors of ceramide glucosyl-transferase (GlcCerT) and non-lysosomal glucosylceramidase (GBA2) reduce the inflammatory response to *P. aeruginosa* in CF bronchial epithelial cells" NACFC 2012, Orlando, USA

- FFC Project# 17/2010 **"Molecular characterization of trimethylangelicin (TMA) and structurally-related compounds in CF lung disease: anti inflammatory effects and potentiation of the CFTR biological activity"**

Roberto Gambari (Dip. Biochimica e Biologia Molecolare, Università di Ferrara); Francesco Dall'Acqua (Dip. Scienze Farmaceutiche, Università di Padova)

Publications

- Borgatti M. et al. "Development of a novel furocumarin derivative inhibiting NF- κ B dependent biological functions: design, synthesis and biological effects" *Eur J Med Chem.* 2011, Oct;46(10):4870-7
- Borgatti M. et al. "Bergamot (*Citrus bergamia Riso*) fruit extract and identified components alter expression of interleukin 8 gene in cystic fibrosis bronchial epithelial cells lines" *BMC Biochem.* 2011 Apr 15; 12:15
- Mazzitelli S. et al. "Encapsulation of eukaryotic cells alginate micro-particles: cell signaling by TNF-alpha through capsular structure of cystic fibrosis cells" *J Cell Commun Signal.* 2011 Jun;5(2):157-65 Epub 2010 Nov 25
- Tamanini A. et al. "Trimethylangelicin Reduces IL-8 Transcription and Potentiates CFTR Function" *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2011 Mar;300(3):L380-90
- Hau D. K. et al. "In vivo anti-tumoral activity of corilagin on Hep3B hepatocellular carcinoma" *Phytomedicine.* 2010 Dec 15;18(1):11-5
- Piccagli L. et al. "Virtual screening against nuclear factor κ B (NF- κ B) of a focus library: identification of bioactive furocoumarin derivatives inhibiting NF- κ B dependent biological functions involved in cystic fibrosis" *Bioorg Med Chem.* 2010 Dec 1;18(23):8341-9
- Borgatti M. et al. "Induction by TNF- α of IL-6 and IL-8 in cystic fibrosis bronchial IB-3-1 epithelial cells encapsulated in alginate micro-beads" *J Biomed Biotechnol.* 2010; 2010. pii:907964. Epub 2010 Sep 8
- Gambari R. "Recent patents on the therapy based on the transcription factor decoy approach" *Expert Opinion on Therapeutic Patents.* 2011 Nov;21(11):1755-71
- Lampronti I. et al. "Modulation of the expression of the proinflammatory IL-8 gene in cystic fibrosis cells by extracts deriving from olive mill waste water" *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013;2013:960603. doi: 10.1155/2013/960603. Epub 2013 Jul 7.

- FFC Project# 18/2010 **"Infections in cystic fibrosis: role of the long pentraxin PTX3 in host resistance and as therapeutic agent"**

Cecilia Garlanda (Fondazione Humanitas per la Ricerca, Milano); Alessandra Bragonzi (Infections and Cystic Fibrosis Unit, Division of Immunology, Transplantation and Infectious Disease, H. S. Raffaele, Milano)

Publications

- Moalli F. et al. "The therapeutic potential of the humoral pattern recognition molecule PTX3 in chronic lung infection caused by *Pseudomonas aeruginosa*", *J Immunol.* 2011 May 1;186(9):5425-34
- Chiarini M. et al. "PTX3 genetic variations affect the risk of *Pseudomonas aeruginosa* airway colonization in cystic fibrosis patients" *Genes Immun.* 2010 Dec;11(8):665-70.
- Inforzato A. et al., "The long pentraxin PTX3 at the crossroads between innate immunity and tissue remodeling" *Tissue Antigens.* 2011 Apr;77(4):271-82.
- Moalli F. et al., "Pathogen recognition by the long pentraxin PTX3" *J Biomed Biotechnol.* 2011;2011:830421. Epub 2011 Jun 2.
- Moalli F. et al. "Role of complement and FC γ receptors in the protective activity of the long pentraxin PTX3 against *Aspergillus fumigatus*" *Blood.* 2011 116:5170-5180
- Doni A. et al. "Interactions of the humoral pattern recognition molecule PTX3 with the complement system" *Immunobiology.* 2012

- Nov;217(11):1122-8
- Inforzato A. et al. "Pentraxin in humoral innate immunity" *Adv Exp Med Biol.* 2012;946:1-20
 - Paroni M. et al. "Response of CFTR-deficient mice to long-term *Pseudomonas aeruginosa* chronic infection and PTX3 therapeutic treatment" *J Infect Dis.* 2012 Oct 18. [Epub ahead of print]
 - Vélez Rodriguez T. et al. "Role of Toll interleukin-1 receptor (IL-1R) 8, a negative regulator of IL-1R/Toll-like receptor signaling, in resistance to acute *Pseudomonas aeruginosa* lung infection" *Infect Immun.* 2012 Jan;80(1):100-9
 - Garlanda C. et al. "Negative regulatory receptors of the IL-1 family" *Semin Immunol.* 2013 Dec 15;25(6):408-15
 - Riva F. et al. "TIR8/SIGIRR is an Interleukin-1 Receptor/Toll Like Receptor Family Member with Regulatory Functions in Inflammation and Immunity" *Front Immunol.* 2012 Oct 29;3:322
 - Garlanda C. et al. "Decoys and Regulatory "Receptors" of the IL-1/Toll-Like Receptor Superfamily" *Front Immunol.* 2013 Jul 9;4:180
- Abstracts**
- Garlanda C. et al., "Role of Complement and Fcg Receptors in the protective activity of the long pentraxin PTX3 against *Aspergillus fumigatus* and *Pseudomonas aeruginosa*" Innate Immunity: Mechanisms Linking with Adaptive Immunity. June 7 - 12, 2010. Trinity College Dublin, Ireland
 - Garlanda C., "Infections in cystic fibrosis: role of the long pentraxin PTX3 in host resistance and as therapeutic agent", VIII Italian Convention of Researchers in Cystic Fibrosis, Verona, Italy, December 2-4, 2010
 - Garldanda C., "Role of the long pentraxin PTX3 in chronic lung infection by *Pseudomonas aeruginosa*" SIICA 7th National Conference", Bari, Italy, May 26-29, 2010
 - Garlanda C., "The therapeutic potential of the humoral pattern molecule PTX3 in chronic lung infection caused by *Pseudomonas aeruginosa*" 5th ENII EFL/EJI Summer School in advanced immunology", Capo Caccia, Sardinia, Italy, May 9-16, 2010
 - Moalli F. et al. "Role of Complement and Fcy Receptors in the protective activity of the long pentraxin PTX3 against *Aspergillus fumigatus*" Innate Immunity: Mechanisms Linking with Adaptive Immunity, Trinity College Dublin, Dublin, Ireland, June 7-12, 2010
 - Paroni M. et al. "Therapeutic potential of the long pentraxin PTX3 in a murine model of *Pseudomonas aeruginosa* chronic lung infection" 24th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Baltimore, USA, October 21-23, 2010
 - Moalli F. et al. "Role of Complement and Fcy Receptors in the protective activity of the long pentraxin PTX3 against *Aspergillus fumigatus* and *Pseudomonas aeruginosa*", Toll2011 Meeting, Decoding Innate Immunity, Riva del Garda, Italy, May 4-7, 2011
 - Garlanda C. et al., "Role of Complement and Fcg Receptors in the protective activity of the long pentraxin PTX3 against *Aspergillus fumigatus* and *Pseudomonas aeruginosa*", Toll2011 Meeting, Decoding Innate Immunity, Riva del Garda, Italy, May 4-7, 2011
 - FFC Project# 20/2010 **"Identification of agents with multiple favourable activities as potential treatments for cystic fibrosis"** Annamaria Naggi (Ist. di Ricerche Chimiche e Biochimiche "G. Ronzoni", Milano), Edwin A. Yates (School of Biological Science, University of Liverpool), Janis Shute (Div. Pharmacol. Pharmacy and Biomolecular Science, Univ. Portsmouth)
- Publications**
- Veraldi N, Hughes AJ, Rudd TR et al. "Heparin derivatives for the targeting of multiple activities in the inflammatory response" *Carbohydrate Polymers* 2015; 117:400-407
- Abstracts**
- Veraldi N. et al. "Heparin derivatives as potential anti-inflammatory in cystic fibrosis treatment" XIII CSCC, Certosa di Pontignano, June 24-27, 2012
- FFC Project#21/2010 **"Th17 responses in Cystic fibrosis: paving the way for novel anti-inflammatory strategies and immunogenetic screening"** Luigina Romani (Dip. Medicina Sperimentale e Scienze Biomediche, Università di Perugia)
- Publications**
- Sorci G. et al. "The danger signal S100B integrates pathogens- and danger-sensing pathways to restrain inflammation" *PLoS Pathog.* 2011 Mar;7(3):e1001315
 - Romani L. "Immunity to fungal infections" *Nat Rev Immunol.* 2011 Apr;11(4):275-88
 - Zelante T. et al. "IL-22 in antifungal immunity" *Eur J Immunol.* 2011 Feb;41(2):270-5
 - Cunha C. et al. "Genetically-determined hyperfunction of the S100B/RAGE axis is a risk factor for Aspergillosis in Stem Cell transplant recipients" *PLoS One.* 2011;6(11):e27962. Epub 2011 Nov 17
 - Cunha C. et al. "Immunogenetic profiling to predict risk of invasive fungal diseases: where are we now?" *Immunol Invest.* 2011;40(7-8):723-34.
 - Carvalho A. et al. "Immunotherapy of aspergillosis" *Clin Microbiol Infect.* 2012 Feb;18(2):120-5.
- Zelante T. et al. "Sensing of mammalian IL-17 regulates fungal adaptation and virulence" *Nat Commun.* 2012 Feb 21;3:683. doi: 10.1038/ncomms1685.
 - Cunha C. et al. "Host genetics and invasive fungal diseases: towards improved diagnosis and therapy?" *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2012 Mar;10(3):257-9.
 - Carvalho A. et al. "Host defense pathways against fungi: the basis for vaccines and immunotherapy" *Front Microbiol.* 2012;3:176.
 - Cunha C. et al. "DAMP signaling in fungal infections and diseases" *Front Immunol.* 2012;3:286.
 - Iannitti RG. et al. "Th17/Treg imbalance in murine cystic fibrosis is linked to indoleamine 2,3-dioxygenase deficiency but corrected by kynurenes" *Am J Respir Crit Care Med.* 2013 Mar 15;187(6):609-20
- Abstracts**
- Iannitti RG. et al. "Aspergillosis in Cystic Fibrosis: a multifactorial disease?" "5th Advances Against Aspergillosis" Istanbul, 2011 January 26 - 28
 - Romani L. "Controversies in immunology: excessive inflammation in Aspergillosis" "5th Advances Against Aspergillosis" Istanbul, 2012 January 26 - 28
 - Carvalho A. "Cracking the genetic code for susceptibility to aspergillosis in immunodeficient patients" Gordon Research Conference - Immunology of fungal infections, Galveston (Texas), January 15-22, 2011
 - Romani L. "Immunity to fungi: what is required?" EBMT Annual Meeting, Paris (France), April 3-6, 2011
- FFC Project#18/2011 **"Inflamasome activation and IL-1 β mediated inflammation triggered by *Pseudomonas aeruginosa*: a rationale for novel therapeutic approaches in cystic fibrosis patients"** Maria Lina Bernardini (Dip. Biologia e Biotecnologie, Università "La Sapienza", Roma), Antonio Molinari (Dip. Chimica organica e biochimica, Università di Napoli), Cecilia Garlanda (Fondazione Humanitas per la Ricerca, Milano), Abdelmounaaim Allaoui (Lab. Batteriologia Molecolare - Facoltà di Medicina - Libera Università di Bruxelles)
- Publications**
- Garlanda C. et al. "Decoys and Regulatory "Receptors" of the IL-1/Toll-Like Receptor Superfamily" *Front Immunol.* 2013 Jul 9;4:180. doi: 10.3389/fimmu.2013.00180. eCollection 2013
 - Riva F. et al. "TIR8/SIGIRR is an Interleukin-1 Receptor/Toll Like Receptor Family Member with Regulatory Functions in Inflammation and Immunity" *Front Immunol.* 2012 Oct 29;3:322. doi: 10.3389/fimmu.2012.00322. eCollection 2012
- FFC Project#19/2011 **"Phospholipase C beta (PLCB) as candidate therapeutic target in CF lung proinflammatory signaling"** Giulio Cabrini (Dip. Patologia e Diagnostica, Università di Verona), Paolo Pinton (Dip. Medicina Sperimentale e Diagnostica, Università degli Studi di Ferrara)
- Abstracts**
- Cabrini C. et al. "P. aeruginosa and modulation of IL-8 gene expression in bronchial epithelial cells" New frontiers in basic science of cystic fibrosis, Malta ECFS Conference, 26-29 March 2014
- FFC Project#20/2011 **"Host Response to *Pseudomonas aeruginosa* adaptation during airway chronic infection"** Cristina Cigana (Divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie infettive - Istituto San Raffaele, Milano)
- Publications**
- Lorè N. I. et al. "Cystic fibrosis-niche adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* reduces virulence in multiple infection hosts" *PLoS One.* 2012;7(4):e35648. Epub 2012 Apr 25
 - Lorè N. I. et al. "The IL-17A/IL-17RA axis in pulmonary defence and immunopathology" *Cytokine Growth Factor Rev.* 2016 Aug;30:19-27
- Abstracts**
- Cigana C. et al. "Adaptation of *P. aeruginosa* in cystic fibrosis airways affects the host immune-response" NACFC, 2011, Anaheim, California, USA
 - Cigana C. et al. "Cystic fibrosis adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* modulates innate immune system and tissue damage control" *Cytokines* 2012, 10th Joint Annual Meeting, 11-14 September 2012, Geneva, Switzerland
 - Cigana C. et al. "Host response to *Pseudomonas aeruginosa* adaptation during chronic infection" 35th European Cystic Fibrosis Conference, 6-9 June 2012, Dublin, Ireland
 - Lorè N.I. et al. "Adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis airways affects the host immune-response" VI European CF Young investigator meeting, Paris, France, 2012
 - Cigana C. et al. "Cystic fibrosis-adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* modulates innate immune system detection and tissue damage control" NACFC 2012, Orlando, Florida, USA
 - Cigana C. et al. "Defining critical players in inflammation and tissue damage during infection with *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates in mice" NACFC 2013, Salt Lake City, Utah, USA
 - C. Riva, C. Cigana, NI. Lorè, I. De Fino, L. Spagnuolo, A. Bragonzi

"Inflammatory response and tissue damage induced by chronic lung infection with *Pseudomonas aeruginosa* patho-adaptive variants" 8th European CF Young Investigator Meeting Paris, France, 19-21 February 2014, 3rd Phd Workshop, Università degli Studi di Milano, Milan, Italy, 26-27 June 2014, Milan meets Immunology Meeting, Milan, Italy, 16 April 2014

- Cigana C, Lorè NI, Riva C, De Fino I, Spagnuolo L, Mondino A, Carriani L, Colombo C, Sipione B, Bragonzi A. "Pseudomonas aeruginosa adaptation is associated to sustained lymphocytosis and tissue damage during chronic infection in murine models and humans" 28th Annual North-American Conference, Atlanta, GA (USA), 9-11 October 2014
- Funiciello F, Soldati R, Galletti P, Giacomini D. "Monocyclic beta-lactams and cystic fibrosis : facing antioxidant and antimicrobial activity of N-thiomethyl-azetidinones" 13a giornata scientifica borsisti CINMPIS, presentazione orale, Perugia 18.12.2013

- FFC Project#21/2011 "**Phosphodiesterases type-4 (PDE4) as a novel target to reduce neutrophilic lung inflammation in cystic fibrosis**" Virgilio Evangelista (Lab. di Biologia e Farmacologia Vascolare, Consorzio Mario Negri Sud, Chieti), Mario Romano (Lab. Medicina Molecolare, Ce.S.I., Università Chieti-Pescara)

Abstracts

- Totani L. et al. "Phosphodiesterases type-4 (PDE4) as a novel target to control neutrophilic lung inflammation in cystic fibrosis" New frontiers in basic science of cystic fibrosis, Malta, ECFS Conference, 26-29 March 2014

- FFC Project#22/2011 "**Targeting ceramide metabolism as a pharmacological strategy in cystic fibrosis**" Riccardo Ghidoni (Lab. Biochimica e Biologia Molecolare, Dip. Medicina, Osp. S. Paolo, Università di Milano)

Publications

- Caretti A. et al. "Anti-inflammatory action of lipid nanocarrier-delivered myriocin: therapeutic potential in cystic fibrosis" *Biochim Biophys Acta.* 2013 Oct 18. pii: S0304-4165(13)00458-3. doi: 10.1016/j.bbagen.2013.10.018. [Epub ahead of print]
- Caretti A, Bragonzi A, Facchini M et al. "Antiinflammatory action of lipid nanocarrier -delivered myriocin: therapeutic potential in cystic fibrosis" *Biochimica et Biophysica Acta* 2014; 1840:586-594

- FFC Project#23/2011 "**Polyethylenimine-engineered respirable particles delivering a decoy oligonucleotide to NF- κ B: a novel combination therapy for cystic fibrosis?**"

Fabiana Quaglià (Dip. Chimica Farmacologica e Tossicologica, Università "Federico II", Napoli), Rosa Carnuccio (Dip. Farmacologia Sperimentale, Università "Federico II", Napoli)

Publications

- Ungaro F. et al. "PEI-Engineered Respirable Particles Delivering a Decoy Oligonucleotide to NF- κ B: Inhibiting MUC2 Expression in LPS-Stimulated Airway Epithelial Cells" *PLoS One.* 2012;7(10):e46457
- Ungaro F. et al. "Engineered PLGA nano- and micro-carriers for pulmonary delivery: challenges and promises" *J Pharm Pharmacol.* 2012 Sep;64(9):1217-35
- De Stefano D. et al. "A decoy oligonucleotide to NF- κ B delivered through inhalable particles prevents LPS-induced rat airway inflammation" *Am J Respir Cell Mol Biol.* 49(2013):288-95

Abstracts

- De Stefano D. et al. "NF- κ B decoy ODN release from respirable and biodegradable PEI/PLGA particles inhibits MUC2 expression il LPS-stimulated human lung cells" 35° Congresso Nazionale della Società Italiana di Farmacologia, Bologna, 2011
- Ungaro F. et al. "Engineering inhalable particles for local and prolonged delivery of an oligonucleotide decoy to nuclear factor- κ b" 8th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, March 19-22, 2012, Istanbul, Turkey.
- Ungaro F. et al. "Engineered respirable carriers for the sustained delivery of drugs to the lungs" XXII Simposio ADRITELF "1972-2012: 40 anni di Tecnologia Farmaceutica", September 13-16, 2012, Firenze, Italy
- Ungaro F et al. "Improving therapy of lung inflammation by inhalable powders for prolonged release of a decoy oligonucleotide against NF- κ B" 3rd Conference on Innovation in Drug Delivery: Advances in Local drug Delivery, September 22-25, 2013, Pisa, Italy. Selected as oral presentation.
- De Stefano D. et al. "A decoy oligonucleotide to NF- κ B delivered through inhalable particles inhibits the lung inflammation induced by LPS in rat" 36mo Congresso Nazionale della Società Italiana di Farmacologia, October 23-26, 2013, Torino, Italy.

- FFC Project#10/2012 "**A very promising drug against *Burkholderia cenocepacia***"

Giovanna Riccardi (Dip. di Biologia e Biotecnologie, Università di Pavia)

Publications

- Scoffone VC. et al. "Mechanism of resistance to an antitubercular

2-thiopyridine derivative that is also active against *Burkholderia cenocepacia*" *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(4):2415-7

- Scoffone VC. et al. "Efflux-mediated resistance to a benzothiadiazol derivative effective against *Burkholderia cenocepacia*" *Front Microbiol.* 2015 Aug 5;6:815.

- FFC Project#14/2012 "**Structure-activity relationships (SAR) of neoglycoconjugates derived from deoxynojirimycin as possible therapeutic agents for cystic fibrosis lung disease, by modulating the metabolism of sphingolipids**"

Maria Cristina Dechechchi (Lab. Patologia Molecolare, Laboratorio Analisi AOUI, Verona), Frédéric Becq (Inst. Physiologie et Biologie Cellulaires, Université de Poitiers, France)

Publications

- Lampronti I. et al. "Modulation to the expression of the proinflammatory IL-8 gene in Cystic Fibrosis by extracts deriving from olive mill waste water" *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013;2013:960603. doi: 10.1155/2013/960603. Epub 2013 Jul 7
- Bezzerrini V, Avitabile C, Dechechchi MC, Lampronti I, Borgatti M, Montagner G, Cabrini G, Gambari R, Romanelli A. "Antibacterial and anti-inflammatory activity of a temporin B peptide analogue on an in vitro model of cystic fibrosis." *Journal of Peptide Science* 2014 Oct;20(10):822-30
- Loberto N. et al. "GBA2-Encoded β -Glucosidase Activity Is Involved in the Inflammatory Response to *Pseudomonas aeruginosa*" *PLoS One* 2014 Aug 20;9(8):e104763. doi: 10.1371/journal.pone.0104763. eCollection 2014

Abstracts

- Tebon M. et al. "Non-lisosomial beta-glucosidase 2 (GBA2) as a target of the anti-inflammatory effect of miglustat" ECFS Basic Science Conference, 20-24 March 2013, Malaga, Spain
- Tebon M. et al. "Non-Lysosomal Beta-Glucosidase 2 (Gba2) as a target of the Anti-Inflammatory Effect of Miglustat." 10th ECFS Basic Science Conference
- Munari S. et al. "Structure-activity-relationships (sar) of neoglycoconjugates derived from Deoxynojirimycin as possible anti-inflammatory agents for CF lung disease" 11th ECFS Basic Science Conference, 26-29 March, Malta
- Loberto N. et al. "Involvement of the non-lysosomal β -glucosidase gba2 in the inflammatory response to pseudomonas aeruginosa in cystic fibrosis" 2nd International Workshop on Molecular Medicine of Sphingolipids. 12-17 ottobre 2014. Kloster Banz, Germania. Oral Presentation

- FFC Project#15/2012 "**The Heme-oxygenase 1 (HO-1) as modulator of Cystic Fibrosis lung disease**"

Valeria Raia (Dipartimento di Pediatria, Università "Federico II", Napoli), Emanuela Bruscia (Dep. Pediatrics, Respiratory Medicine, Yale University School of Medicine), Luigi Maiuri (IERFC, San Raffaele, Milano)

Publications

- Zhang PX. et al. "Reduced caveolin-1 promotes hyperinflammation due to abnormal heme oxygenase-1 localization in lipopolysaccharide-challenged macrophages with dysfunctional cystic fibrosis transmembrane conductance regulator" *J Immunol.* 2013 May 15;190(10):5196-206. doi: 10.4049/jimmunol.1201607. Epub 2013 Apr 19.

Abstracts

- Villela V. et al. "The Heme-oxygenase 1 (HO-1) as modulator of cystic fibrosis lung disease" 7th European CF Young investigators meeting, February 27-March 1, 2013

- FFC Project#16/2012 "**Targeting pathogenic pathways leading to inflammatory Th17 responses in cystic fibrosis: a drug discovery approach**"

Luigina Romani (Dip. Medicina Sperimentale e Scienze Biochimiche, Università di Perugia)

Publications

- Iannitti RG, Casagrande A, De Luca A et all. "Hypoxia promotes danger-mediated inflammation via receptor for advanced glycation end products in cystic fibrosis" *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 2013; 188:1338-1350
- Bedke T, Iannitti RG, De Luca A et al. "Distinct and complementary roles for *Aspergillus fumigatus*-specific Tr1 and Foxp3(+) regulatory T cells in humans and mice" *Immunol Cell Biol* 2014;92:659-70

Abstracts

- Iannitti RG. et al. "Cystic fibrosis Th17/Treg imbalance to *Aspergillus fumigatus*: insights for novel anti-inflammatory strategies and immunogenetic screening" North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC) Orlando (Florida, USA), 11-13 October, 2012. Gordon Research Conference "Immunology of Fungal Infections". Galveston (TX, USA), 13-18 January, 2013.
- Galosi C. et al. "Geneticvariants in IDO1 are associated with increasedsusceptibility to *A.fumigatus*colonization in patients with cystic fibrosis" The 15th International Congress of Immunology. SM5. Fungi in the setting of inflammation, allergy and autoimmune

- diseases: Translating basic science into clinical practices. Perugia (Italy), August 29-30, 2013
- Borghi M. et al. "Targeting pathogenic pathways leading to inflammatory responses in Cystic Fibrosis" Meeting "Fungi in the setting of inflammation, allergy and autoimmune diseases: Translating basic science into clinical practices". Borgo RiccioTorchiaro (SA, Italy), April 13-16, 2014
 - Romani L. "IDO/Kynurenine: A novel anti-inflammatory Th17 counteracting pathway in CF" 37th European Cystic Fibrosis Conference. Gothenburg (Sweden), June 11-14, 2014
 - De Luca A. et al. "IL-1 blockade as a potential therapeutic target in Aspergillosis" 6th Advances Against Aspergillosis meeting. Madrid (Spain), February 27 - 1 March, 2014
 - Iannitti RG. et al. "Hypoxia promotes danger-mediated inflammation via RAGE in Cystic Fibrosis" 6th Advances Against Aspergillosis meeting. Madrid (Spain), February 27 - 1 March, 2014
 - FFC Project#18/2012 **"Cystic Fibrosis liver disease: the role of CFTR as regulator of epithelial innate immunity"**
Mario Strazzabosco (Dip. Medicina Clinica e Prevenzione, Università Milano-Bicocca, Milano)
- Publications
- Fouassier L. et al. "Ezrin finds its groove in cholangiocytes" Hepatology. 2015 May;61(5):1467-70
 - Scirpo R. et al. "Stimulation of nuclear receptor peroxisome proliferator-activated receptor-γ limits NF-κB-dependent inflammation in mouse cystic fibrosis biliary epithelium" Hepatology. 2015 Nov; 62(5):1551-62
 - Fiorotto R. et al. "CFTR controls biliary epithelial inflammation and permeability by regulating Src tyrosine kinase activity" Hepatology 2016 Sep 15. doi: 10.1002/hep.28817
- Abstracts
- Fiorotto R. et al. "Src tyrosine kinase mediates the increased TLR4-dependent stimulation of innate immune responses to endotoxins in Cftr-defective cholangiocyte" AASLD Liver Meeting 2013, Washington, USA Hepatology 58: 151A
 - Fiorotto R. et al. "Src tyrosine kinase mediates the increased TLR4-dependent stimulation of innate immune responses to endotoxins in Cftr-defective cholangiocytes" ICI satellite meeting, SM7, "Endotoxin, TLR4 signaling, and beyond". Cinisello Balsamo (MI), Italy, 21st August 2013
 - Scirpo R. et al. "Stimulation of PPAR-γ Nuclear Receptor Limits NFκB-dependent Inflammation in Cystic Fibrosis Biliary Epithelium" ECLCB-6 2014, Castelfranco Veneto, Italy
 - Fiorotto R. et al. "CFTR controls TLR4 responses of the biliary epithelium by regulating C-SRC tyrosine kinase activation" 28th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Atlanta, October 9-11, 2014
 - Scirpo R. et al. "Stimulation of PPAR-γ reduces NFκB-dependent inflammation in cystic fibrosis biliary epithelium" 28th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Atlanta, October 9-11, 2014
 - Scirpo R. et al. "Stimulation of PPAR-γ reduces NFκB-dependent inflammation in cystic fibrosis biliary epithelium" AASLD Liver Meeting 2014, Boston, USA
 - Fiorotto R. et al. "The Cystic Fibrosis Conductance Regular (CFTR) controls c-Src tyrosine kinase signaling and regulates innate immunity and epithelial polarity in cholangiocytes" AASLD Liver Meeting 2014, Boston, USA
 - Scirpo R. et al. "Activation of PPAR-γ signaling as a novel target to limit NF-κB-dependent inflammation in Cystic Fibrosis biliary epithelium" EASL International Liver Congress™ 2014, London, UK
 - Fiorotto R. et al. "CFTR controls a membrane multi-protein complex that regulates cholangiocyte c-Src tyrosine kinase activity and tlr4 signaling: implications for cystic fibrosis liver disease (CFLD)" EASL International Liver Congress™ 2014, London, UK
 - Fiorotto R. et al. "CFTR controls TLR4 responses of the biliary epithelium by regulating c-Src tyrosine kinase activation" ECLCB-6 2014, Castelfranco Veneto, Italy
 - Scirpo R, Fiorotto R, Villani A, Fabris L, Strazzabosco M. "Stimulation of PPAR-γ reduces NFκB-dependent inflammation in cystic fibrosis biliary epithelium" The 28th North American Cystic Fibrosis Conference 2014, Atlanta, USA
 - Fiorotto R, Villani A, Scirpo R, et al. "Src tyrosine kinase mediates the increased TLR4-dependent stimulation of innate immune responses to endotoxins in Cftr-defective cholangiocytes" AASLD Liver Meeting 2013, Washington, USA Hepatology 58: 151A.
 - FFC Project#13/2013 **"Lactoferrin-loaded niosomes in reducing inflammation and infection of cystic fibrosis airway epithelium"**
Francesca Berluti (Dip. Salute Pubblica e Malattie infettive, Università "La Sapienza", Roma)
- Publications
- Frioni A. et al. "Lactoferrin differently modulates the inflammatory response in epithelial models mimicking human inflammatory and infectious diseases" Biometals 2014 Oct;27(5):843-56
 - Valentini P. et al. "Lactoferrin and cystic fibrosis airway infection. In "Diet and Exercise in Cystic Fibrosis" (Ronald Ross Watson) Academic Press, Waltham" Book: WATSON-9780128000519 Chapter: 09
- Abstracts
- Berluti F. et al. "Lactoferrin modulates inflammatory and iron network in different epithelial cell models mimicking human infection and inflammatory diseases" XI International Conference on Lactoferrin, 6-10 October 2013, Rome, Italy
 - FFC Project#14/2013 **"Pathophysiological relevance of glycosaminoglycans in Pseudomonas aeruginosa chronic lung infections and validation of new therapeutic approaches to modulate inflammation and tissue remodeling"**
Cristina Cigana (Infections and Cystic Fibrosis Unit, HSR, Milano), Annamaria Naggi (Ist. Ricerche Chimiche e Biochimiche G. Ronzonni), Carla Colombo (Fondazione IRCSS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano)
- Publications
- Yonker LM. et al. "Host-pathogen interplay in the respiratory environment of cystic fibrosis" J Cyst Fibros. 2015 Jul;14(4):431-9
 - Cigana C. et al. "Tracking the immunopathological response to *Pseudomonas aeruginosa* during respiratory infections" Sci Rep. 2016 Feb 17;6:21465. doi: 10.1038/srep21465
 - Lorè IN. et al. "IL-17A impairs host tolerance during airway chronic infection by *Pseudomonas aeruginosa*" Sci Rep. 2016 May 18;6:25937
- Abstracts
- Riva C. et al. "*Pseudomonas aeruginosa* adaptation to cystic fibrosis airways shapes the host response in mice during the progression of airway disease" 12th ECFS Basic Science Conference (25-28 March 2015, Albufeira Portugal) - 4rd Phd Workshop Università degli Studi di Milano 18-19.06.2015
 - Cigana C. et al. "*Pseudomonas aeruginosa* adaptation as a potential risk factor to the progression of cystic fibrosis airway disease in mice and humans", 38th ECFS Conference, Brussels, Belgium, 10-13 June 2015
 - Lorè N.I. et al. "The double-edge sword activity of IL-17 during *Pseudomonas aeruginosa* chronic airway infection: implications for host resistance and tolerance 29th Annual North-American Conference, Phoenix, AZ (USA), 8-10 October 2015
 - Riva C. et al. "*Pseudomonas aeruginosa* adaptation to cystic fibrosis airways shapes the host response in mice during the progression of airway disease"
 - Colombo C., Mosconi P., Glasziou P. "How to provide evidence-based information and translate Cochrane reviews to lay people in a deliberative setting: the Italian and the Australian citizen juries experience on population screening" 23rd Cochrane Colloquium Vienna, 3-7 October 2015
 - Lorè N.I., Cigana C., Sipione B. et al. "IL-17 relevance during *P. aeruginosa* airway chronic infection" 10th European CF Young Investigator Meeting Paris, France February 10th to 12th 2016"
 - Riva C., Lorè N.I., Sipione B. et al. "*Pseudomonas aeruginosa* chronic infection induced inflammation and tissue damage in the lung: the role of glycosaminoglycans" 10th European CF Young Investigator Meeting Paris, France February 10th to 12th 2016
 - FFC Project#18/2013 **"Development of a CF, IL-8/NF-KB transgenic mouse model for the in vivo long-term monitoring of the inflammatory response induced by bacteria treated or not with azithromycin"**
Maria M. Lleò (Dip. di Patologia e Diagnostica, Sez. Microbiologia, Università di Verona)
- Publications
- Stellari F. et al. "In vivo imaging of the lung inflammatory response to *Pseudomonas aeruginosa* and its modulation by azithromycin" J Transl Med. 2015 Aug 4;13:251
- Abstracts
- Bergamini C. et al. "Development of a CF, IL-8 transgenic mouse model for the *in vivo* long term monitoring of lung inflammation" 1st Italian CF Young Investigator Meeting January 16th - 17th 2015, Rome, Italy
 - Bergamini G. et al. "Development of a CF, IL-8 transgenic mouse model for the *in vivo* long-term monitoring of lung inflammation", NACFC 2015
 - FFC Project#19/2013 **"The role of vascular endothelium in cystic fibrosis inflammation"**
Mario Romano (Dip. Scienze Sperimentali e Cliniche, Lab. Medicina Molecolare, Università "G. D'Annunzio", Chieti-Pescara), Licia Totani (Dip. di Farmacologia Traslazionale, Consorzio Mario Negri Sud), Marco Marchisio (Dip. Medicina e Scienze dell'Invecchiamento, Università "G. D'Annunzio" Chieti-Pescara)
- Publications
- Romano M. et al. "Lipoxins and aspirin-triggered lipoxins in resolution of inflammation" Eur J Pharmacol. 2015 Aug 5;760:49-63

Abstracts

- Totani L. et al. "The involvement of vascular endothelium in cystic fibrosis lung inflammation", New frontiers in basic science of cystic fibrosis, Malta, ECFS Conference, 26-29 March 2014

FFC Project#20/2013 "Sphingolipid targeting in inflammation and fungal infection"

Paola Signorelli (Dip. di Scienze della Salute, Facoltà di Medicina, Università di Milano), Elisa Borghi (Dip. di Scienze della Salute, Facoltà di Medicina, Università di Milano), Silvano Sozzani (Dip. Medicina Molecolare e Traslazionale, Università degli Studi di Brescia)

Publications

- Perdoni F. et al. "Antifungal activity of Myriocin on clinically relevant Aspergillus fumigatus strains producing biofilm" BMC Microbiol. 2015 Oct 30; 15:248
- Ghidoni R. et al. "Role of Sphingolipids in the Pathobiology of Lung Inflammation" Mediators Inflamm. 2015; 2015:487508. doi: 10.1155/2015/487508. Epub 2015 Dec 3. Review.
- Caretti A. et al., "Inhibition of ceramide de novo synthesis by myriocin produces the double effect of reducing pathological inflammation and exerting antifungal activity against A. fumigatus airways infection", Biochim Biophys Acta 2016 Jun;1860(6):1089-97

Abstracts

- Perdoni F. et al. "Antifungal activity of Myriocin, a sphingolipid metabolism inhibitor, on pathogenic fungi" Third Meeting of the ECMM/ISHAM Working Group on Fungal Respiratory Infections in Cystic Fibrosis, Angers- France, 5-6 June 2014 (oral communication)
- Perdoni F, Riva A, Signorelli P et al. "Nanocarrier delivery of Myriocin, a sphingolipid metabolism inhibitor with antifungal activity, into fungal biofilms" 24th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases in Barcelona, Spain, 10 - 13 May 2014 (poster)
- Perdoni F, Biggiogera M, Cirasola D. et al. "Antifungal activity of Myriocin, a sphingolipid metabolism inhibitor, on fungal biofilms: a preliminary study." ESCMID Study Group for Biofilm (ESGB) Meeting "Biofilm-based Healthcare-associated Infections: from Microbiology to Clinics", Rome 9-10 October 2014

FFC Project#13/2014 " Targeting extracellular Protein Disulphide Isomerase to control Burkholderia cenocepacia lung infections"

Francesca Pacello (Dip. di Biologia, Università di Roma "Tor Vergata")

Publications

- Pacello F. et al. "An ERp57-mediated disulphide exchange promotes the interaction between Burkholderia cenocepacia and epithelial respiratory cells" Sci Rep. 2016 Feb 16;6:21140. doi: 10.1038/srep21140

FFC Project#17/2014 "TRPA1 channels as novel molecular targets for anti-inflammatory therapies in CF lung"

Giulio Cabrini (Laboratorio di Patologia Molecolare, Dip. di Patologia e Diagnostica, Università di Verona), Romina Nassini (Dip. di Scienze Sanitarie, Unità di Farmacologia Clinica e Oncologica, Università di Firenze)

Publications

- Prandini P. et al. "TRPA1 Channels Modulate Inflammatory Response in Respiratory Cells from Cystic Fibrosis Patients" Am J Respir Cell Mol Biol. 2016 Jun
- FFC Project#19/2014 "Mitochondrial Ca²⁺-dependent inflammasome activation exacerbates the P. aeruginosa-driven inflammatory response" Paolo Pinton (Dip. di Morfologia, Chirurgia e Medicina Sperimentale, Lab. Trasduzione del Segnale, Università di Ferrara)

Publications

- Rimessi A. et al. "Mitochondrial Ca²⁺-dependent NLRP3 activation exacerbates the Pseudomonas aeruginosa-driven inflammatory response in cystic fibrosis" Nat Commun. 2015 Feb 4;6:6201

FFC Project#20/2014 "Identification and characterization of LPS-neutralizing human peptides: potential tools to control inflammation in cystic fibrosis lung disease"

Eliodoro Pizzo (Lab. di Struttura e Funzione delle Proteine-SFP, Dip. di Biologia, Università di Napoli "Federico II"), Emilia Maria Pedone (Istituto di Biostrutture e Bioimmagini, C.N.R Napoli)

Publications

- Pizzo E. et al. "A new active antimicrobial peptide from PD-L4, a type 1 ribosome inactivating protein of *Phytolacca dioica* L: A new function of RIPs for plant defence" FEBS Lett. 2015 Sep 14;589(19 Pt B):2812-8
- Notomista E. et al. "The identification of a novel Sulfolobus islandicus CAMP-like peptide points to archaeal microorganisms as cell factories for the production of antimicrobial molecules" Microb Cell Fact. 2015 Sep 4;14:126
- Pane K. et al. "Rational Design of a Carrier Protein for the Production of Recombinant Toxic Peptides in *Escherichia coli*" PLoS ONE 2016 Jan 25;11(1):e0146552
- Pane K. et al. "A new cryptic cationic antimicrobial peptide from hu-

man apolipoprotein E with antibacterial activity and immunomodulatory effects on human cells" FEBS J 2016 Jun;283(11):2115-31

Abstracts

- Bosso A. et al. "A new active antimicrobial peptide from PD-L4, a type 1 ribosome inactivating protein of *Phytolacca dioica* L." IMAP 2015 5th International Meeting on Antimicrobial Peptides, Burlington House, London September 7-8, 2015

FFC Project#21/2014 "Resolvin D1 for Targeting Chronic Lung Inflammation and Infection in Cystic Fibrosis"

Antonio Recchiuti (Dip. di Scienze Cliniche e Sperimentale-CeSl, Università "G. d'Annunzio", Chieti-Pescara)

Abstracts

- Recchiuti A. et al. "Resolvin D1 Reduces Lung Chronic Inflammation and Infection Induced by *Pseudomonas aeruginosa*" 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th - 17th 2015, Rome, Italy

FFC Project#22/2014 "Targeting pathogenic pathways leading to inflammatory Th17 responses in cystic fibrosis: from drug discovery to preclinical validation"

Luigina Romani (Dip. di Medicina Sperimentale, Università di Perugia)

Publications

- Zelante T. et al. "Tryptophan Feeding of the IDO1-AhR Axis in Host-Microbial Symbiosis" Front Immunol. 2014 Dec 15;5:640
- Borghi M. et al. "Antifungal Th Immunity: Growing up in Family" Front Immunol. 2014 Oct 15;5:506
- Iannitti RG. et al. "IL-1 receptor antagonist ameliorates inflammation-dependent inflammation in murine and human cystic fibrosis" Nature Communications 7:10791 | DOI: 10.1038/ncomms10791

FFC Project#24/2014 "The role of Glucocerebrosidase GBA2 in cystic fibrosis lung inflammation: from molecular mechanism to therapeutic strategies"

Sandro Sonnino (Dip. di Biochimica Medica e Medicina Traslazionale, Università di Milano)

Abstracts

- Aureli M. et al. "Development of new inhibitors of the non-lysosomal β -glucosylceramidase GBA2 as possible anti-inflammatory agents for CF lung disease" 12th ECFS Basic Science Conference - 25-28 Marzo 2015, Algarve, Portugal
- Schiumarini D. et al. "Involvement of glycosphingolipid-hydrolases in the inflammatory response to *Pseudomonas aeruginosa* in Cystic Fibrosis" ECFC, 2016
- Aureli M. et al. "Unravelling the role of sphingolipids in cystic fibrosis lung disease" Chem Phys Lipids 2016 Aug 31;200:94-103. doi: 10.1016

FFC Project#25/2014 "Targeting PI3K γ scaffold function to activate airway CFTR, limit lung inflammation and promote bronchorelaxation in cystic fibrosis"

Emilio Hirsch (Dip. di Biotecnologie Molecolari e Scienze per la Salute, Università di Torino, Centro di Biotecnologia Molecolare), Laudanna Carlo (Dip. di Patologia e Diagnostica, Università di Verona, Lab. di Traffico Cellulare e Trasduzione del segnale)

Abstracts

- Richter W. et al. "Disruption of a PI3K γ /PKA/PDE signaling complex augments cAMP/PKA signaling and CFTR activity in non-CF and AF508-CF airway epithelial cells" 12th ECFS Basic Science Conference - 25-28 Marzo 2015, Algarve, Portugal

FFC Project#20/2015 "Mitochondrial quality control machinery a role in the P. aeruginosa-triggered inflammatory response in Cystic Fibrosis"

Alessandro Rimessi (Dipartimento di Morfologia, Chirurgia e Medicina Sperimentale, Laboratorio Trasduzione Segnali - Università di Ferrara)

Publications

- Rimessi A. et al. "Mitochondrial reactive oxygen species and inflammation: Molecular mechanisms, diseases and promising therapies" Int J Biochem Cell Biol. 2016 Jun 29

FFC Project#22/2015 "A systematic investigation of miglustat-derivative iminosugar clusters as possible anti-inflammatory agents for Cystic Fibrosis lung disease"

Maria Cristina Dechechchi (Laboratorio di Patologia Molecolare, Dipartimento di Patologia e Diagnostica - Università di Verona), Massimo Aureli (Dip. di Biotecnologia Medica e Medicina Traslazionale - Università di Milano)

Publications

- Munari S. et al. "Neoglycoconjugates derived from deoxynojirimycin as possible therapeutic agents for cystic fibrosis lung disease, by modulation of the sphingolipid metabolism" JSM Genetics & Genomics, 3 September 2016

Abstracts

- Dechechchi M.C., Munari S., Loberto N. et al. "Miglustat-derivative iminosugars as possible anti-inflammatory agents for cystic fibrosis

- lung disease" 13th ECFS Basic Science Conference, 30 March - 02 April 2016, Pisa, Italy
- Aureli M., Schiumarini D., Loberto N. et al. "Unravelling the link between plasma membrane sphingolipid composition and aberrant inflammatory response in cystic fibrosis" The 30th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, October 27-29, 2016
 - FFC Project#23/2015 **"Targeting PI3K γ scaffold function to activate airway CFTR, limit lung inflammation and promote bronchorelaxation in cystic fibrosis"**

Emilio Hirsch (Dipartimento di Biotecnologie Molecolari e Scienze Sanitarie, Centro di Biotecnologie Molecolari - Università di Torino), Carlo Laudanna (Dip. di Patologia e Diagnostica, Divisione di Patologia Generale, Lab. di Traffico Cellulare e di Trasduzione Cellulare - Università di Verona)

Abstracts

- Ghigo A., Richter W., Murabito A. et al. "Peptide-based disruption of a PI3K γ /PKA/PDE signaling complex augments cAMP/PKA-signaling and CFTR activity in non-CF and F508del-CF airway epithelial cells" 13th ECFS Basic Science Conference, 30 March - 02 April 2016, Pisa, Italy

5 CLINICAL RESEARCH

Ricerca clinica

- FFC Project 2005 **"Infection Control"**

Roberto Buzzetti (Fondazione per la Ricerca sulla Fibrosi Cistica)

Publications

- Buzzetti R. et al. "Controllo e prevenzione delle infezioni respiratorie nel paziente affetto da fibrosi cistica" Edit. Fondazione per la Ricerca sulla Fibrosi Cistica. Verona, 2005
- Festini F. et al. "Isolation measures for prevention of infection with respiratory pathogens in cystic fibrosis: a systematic review" Journal of Hospital Infection (2006) 64, 1-6

- FFC Project#18/2004 **"Early eradication of *P. aeruginosa* and subsequent colonization in cystic fibrosis patients"**

Giovanni Taccetti (Dipart. di Pediatria, Centro Regionale FC, Azienda Ospedaliera Universitaria Meyer)

Publications

- Taccetti G. et al. "Early eradication therapy against Pseudomonas Aeruginosa in cystic fibrosis patients" Eur Respir. J. 2005; 26: 458-461;

- FFC Project# 19/2004 **"Quality control and update of follow-up data in the Italian cystic fibrosis registry: a starting point for the analysis of clinical data and the dissemination of results"**

Anna Bossi (Ist. Statistica e Biometria - Univ. Milano)

Abstracts

- Bossi A. et al. "Cystic Fibrosis in adulthood: data from the Italian registry" 28th European CF Conference, Crete, Greece 22-25 June 2005;
- Piccinini P. et al. "Previsione a 5 anni del numero di pazienti adulti affetti da fibrosi cistica" III Congresso Nazionale SISMEC, Abano Terme: 28 settembre - 1 ottobre 2005;

- FFC Project#16/2005 **"Diabetes, glucose intolerance and hypoglycemia in Cystic Fibrosis"**

Carla Colombo (Dipart. Pediatria - Centro FC - Fond. IRCCS Osp. Maggiore Polic. Mangiagalli e Regina Elena - Milano), Alberto Battizzetti (Fond. Centro San Raffaele del Monte Tabor - Milano)

Publications

- Battezzati A. et al. "Spontaneous hypoglycaemia in patients with cystic fibrosis" European Journal of Endocrinology 2007; 156: 369-376
- Battezzati A. et al. "Identification of insulin secretory defects and insulin resistance during oral glucose tolerance test in a cohort of cystic fibrosis patients" Eur J Endocrinol. 2011 Jul;165(1):69-76. Epub 2011 Apr 18.

Abstracts

- Battezzati A. et al. "Cystic fibrosis related diabetes in anticipated by reduced insulin secretion during OGTT" 13th Italian Cystic Fibrosis Conference, Milan, 30 Nov. - 2 Dec. 2007, J. Cyst Fibrosis 2008; 7, suppl. 3: pp. S22-S23.
- Battezzati A. et al. "Insulin secretory defects identified from OGTT modelling are related to subsequent diabetes and worse pulmonary function in CF patients" Pediatric pulmonology, Suppl. 31, 2008. 22nd Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, 22-25 October 2008, p. 344-345

- FFC Project#19/2006 **"Prolonging the duration on site of short peripheral venous catheters used to administer intravenous antibiotic courses in adult subjects with cystic fibrosis. A randomized controlled trial to evaluate the effect of different concentrations of antibiotic in normal saline solution"**

Filippo Festini (Dipart. Pediatria - Centro FC Ospedale Meyer - Firenze)

Abstracts

- Festini F. et al. "Prolonging the duration of peripheral venous catheters in cystic fibrosis patients. Randomized controlled study on the effect of different concentrations of antibiotics in normal saline solution" 13th Italian Cystic Fibrosis Conference, Milan, 30 Nov. - 2 Dec. 2007, J. Cyst Fibrosis 2008; 7, suppl. 3: p. S8.
- FFC Project#20/2006 **"Prevention of pulmonary exacerbations in children with Cystic Fibrosis, through the modification of intestinal microflora"**

Alfredo Guarino (Dipart. Pediatria - Univ. Federico II Napoli), Carla Colombo (Dipart. Pediatria - Centro FC - Fond. IRCCS Osp. Maggiore Polic. Mangiagalli e Regina Elena - Milano), Lorenzo Morelli (Tecnologie analitiche ed avanzate - Univ. Piacenza)

Publications

- Bruzzese E. et al. "Effect of Lactobacillus GG supplementation on pulmonary exacerbations in patients with cystic fibrosis: a pilot study" Clin Nutr. 2007 Jun;26(3):322-8

Abstracts

- Guarino A. et al. "Probiotics in cystic fibrosis: help from old friends" Pediatric pulmonology, Suppl. 31, 2008. 22nd Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, 22-25 October 2008, pp. 130-131

- FFC Project#21/2006 **"Efficacy of slow release insulin in cystic fibrosis patients with glucide intolerance and clinical decay"**

Laura Minicucci (Istituto G. Gaslini - Dip.to Pediatria - Centro FC, Genova); Riccardo Haupt (Istituto Gaslini, Sezione di Epidemiologia e Biostatistica, Genova)

Publications

- Minicucci L. et al. "Slow-release insulin in cystic fibrosis patients with glucose intolerance: a randomized clinical trial" Pediatr Diabetes. 2011 Nov 8.

- FFC Project #/2006 **"The CAIRO Project" (Analysis and review of the international scientific literature from the CF registries)**

Roberto Buzzetti (Componente del Comitato di Consulenza Scientifica della Fondazione per la Ricerca sulla Fibrosi Cistica), Donatello Salvatore (U. O. Pediatria, Azienda Ospedaliera San Carlo, Potenza)

Publications

- Buzzetti R. et al. "An overview of international literature from cystic fibrosis registries: 1. Mortality and survival studies in cystic fibrosis", Journal of Cystic Fibrosis 9 (2010) 75-83

- Salvatore D. et al. "An overview of international literature from cystic fibrosis registries: 2. Neonatal screening and nutrition/growth", Journal of Cystic Fibrosis 9 (2010) 75-83

- Salvatore D., Buzzetti R., Baldo E. et al. "An overview of international literature from cystic fibrosis registries. Part 3. Disease incidence, genotype/phenotype correlation, microbiology, pregnancy, clinical complications, lung transplantation, and miscellanea" Journal of Cystic fibrosis, 2011 Mar;10(2):71-85. doi: 10.1016

- Salvatore D., Buzzetti R., Baldo E. et al "An overview of international literature from cystic fibrosis registries. Part 4: update 2011" Journal of Cystic fibrosis, 2012 Dec;11(6):480-93. doi: 10.1016

- Salvatore D., Buzzetti R., Mastella G. "An overview of international literature from cystic fibrosis registries. Part 5: Update 2012-2015 on lung disease" Pediatr Pulmonol, 2016 May 10. doi: 10.1002

- Salvatore D., Buzzetti R., Mastella G. "Update of literature from cystic fibrosis registries 2012-2015. Part 6: Epidemiology, nutrition and complications" Pediatr Pulmonol 2016 Sep 29. doi: 10.1002/ppul.23611

Abstracts

- Buzzetti R. et al. "Analysis and review of the international scientific literature from the CF registries" NACF, Anaheim, California, October 3-6, 2007

- Salvatore D. et al. "The CAIRO Project (Comparative analysis of international CF registries overviewed): analysis and review of the scientific literature from CF registries", 13th Italian Cystic Fibrosis Conference, Milan, 30 Nov. - 2 Dec. 2007, J. Cyst Fibrosis 2008; 7, suppl. 3: pp. S8-S9

- FFC Project#16/2007 **"Emission distance of *Ps aeruginosa* from the respiratory tract of infected persons"**

Cesare Braggion (Centro Reg. Toscano FC - Osp. Meyer - Firenze)

Publications

- Festini F. et al. "A 1-m distance is not safe for children with cystic fibrosis at risk for cross-infection with *Pseudomonas aeruginosa*" Am J Infect Control 2010, Apr;38(3):244-5.

• FFC Project#17/2007 **"Early antibiotic treatment in Ps aeruginosa eradication"**

Giovanni Taccetti (Centro Reg. Toscano FC - Osp. Meyer Firenze), Cariani L. (Lab. Microbiol., Centro Reg. F.C. - Milano)

Publications

- Taccetti G. et al. "Early antibiotic treatment for Pseudomonas aeruginosa eradication in patients with cystic fibrosis: a randomised multicenter study coming two different protocols" Thorax. 2012 Oct;67(10):853-859. Epub 2012 Feb 29.

Abstracts

- Taccetti G. et al. "Early antibiotic treatment for Pseudomonas aeruginosa eradication in cystic fibrosis patients: a randomised multicenter study of two different protocols" 23rd Annual North American Cystic Fibrosis Congress, Minneapolis, Minnesota, 15-17 October 2009.
- Taccetti G. et al. "Pseudomonas aeruginosa eradication in cystic fibrosis: preliminary data from a randomized multi center study of two different early antibiotic treatment protocols" The 24th Annual North American CF Conference, October 21-23, 2010, Baltimore, Maryland
- Cocchi P et al "Diffusion of MRSA strains in the Italian CF population: a multicenter study" The 24th Annual North American CF Conference, October 21-23, 2010, Baltimore, Maryland
- Dolce D. et al "Immunological monitoring of P. aeruginosa eradication in cystic fibrosis patients: comparison of methods" The 24th Annual North American CF Conference, October 21-23, 2010, Baltimore, Maryland
- Dolce D. et al. "Evaluation of antibody titer anti-P. aeruginosa in patients undergoing eradication therapy" NACFC 2012, Orlando, USA
- Taccetti G. et al. "Is early eradication treatment against P. aeruginosa associated with the emergence of other non-fermenter gram negatives" NACFC 2013, Salt Lake City, Utah, USA

• FFC Project#16/2008 **"A prospective study about complications of totally implantable central venous access ports in people with CF"**

Alberto Dal Molin (Ospedale Meyer - Dip.to Pediatria, Firenze), Cesare Braggion (Dip. Pediatria - Osp. Meyer - Firenze), Maria Lucia Furnari (Centro Reg. FC - Ospedale dei Bambini - Palermo), Vincenzina Lucidi (Servizio di Supporto FC Ospedale Bambini Gesù - Roma), Elena Rizzi (Centro Reg. FC - Verona), Pietro Cialdella (Centro Reg. FC - Cerignola)

Publications

- Dal Molin A. et al. "Management of totally implantable vascular access devices in patients with cystic fibrosis" Minerva Pediatr. 2009 Oct; 61(5):549-55
- Dal Molin A. et al. "Totally implantable central venous access ports in patients with cystic fibrosis: a multicenter prospective cohort study" J Vasc Access. 2012 Jan 10:0

Abstracts

- Dal Molin A. et al. "National cohort study about complications of totally implantable central venous access ports in Italian people with CF: preliminary results" 23rd Annual North American Cystic Fibrosis Congress, Minneapolis, Minnesota, 15-17 October 2009.
- Dal Molin A et al "Multicenter prospective study about complications of totally implantable central venous access ports in Italian people with CF: preliminary results" J Cyst Fibros. 2009; 8 (Suppl.2):S95

• FFC Project#17/2008 **"Extracorporeal lung assist as bridge to lung transplantation for patients with cystic fibrosis"**

Vito Marco Ranieri (Dip. Discipline Medico Chirurgiche Università degli studi di Torino Sez. Anestesia e Rianimazione)

Publications

- Ricci D. et al. "The use of CO₂ removal devices in patients awaiting lung transplantation: an intial experience" Transplant Proc. 2010 May;42(4):1255-8

• FFC Project#23/2009 **"Modulation of intestinal and extraintestinal inflammation in infants with cystic fibrosis by early modification of intestinal microflora"**

Alfredo Guarino (Dipartimento di Pediatria - Università degli Studi "Federico II" Napoli), Cesare Braggion (Centro Regionale Fibrosi Cistica - Dipart. Medicina Pediatrica - Azienda Ospedaliera Universitaria Meyer - Firenze)Francesca Pardo (Centro Regionale Fibrosi Cistica - 2° U.O. di Pediatria, Ospedale dei Bambini "G. Di Cristina" - Palermo), Lorenzo Morelli (Istituto di Microbiologia - Università Cattolica del Sacro Cuore - Piacenza)

Publications

- Bruzzese E. et al. "Disrupted intestinal microbiota and intestinal inflammation in children with cystic fibrosis and its restoration with Lactobacillus GG: a randomised clinical trial" PLoS One. 2014 Feb 19;9(2):e87796

Abstracts

- Roberto E. et al. "Intestinal inflammation and intestinal microbiota composition in children with cystic fibrosis" XVII National Congress of SIGEN, Pescara, Italy, 7-9 October 2010.
- Roberto E. et al. "Intestinal inflammation and intestinal microbiota composition in children with cystic fibrosis" Digestive and Liver

Disease, 42S (2010), S321-S376.

- Bruzzese E. et al. "Age-Relation pattern of intestinal microflora in children with cystic fibrosis", 44th Annual Meeting of the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN), Sorrento, Italy, 25-28 May 2011.

• FFC Project#23/2010 **"The cystic fibrosis newborn screening in Italy. Survey for assessment of technical-scientific, organizational and psycho-relational issues"**

Teresa Repetto (A.O.U. "A. Meyer", Centro Regionale Toscano Fibrosi Cistica, Firenze)

Abstracts

- Repetto T. et al. "Screening neonatale per fibrosi cistica in Italia: studio di audit sugli aspetti tecnici-scientifici, organizzativi e relazionali" SIMMENS SiMePeD, 28 ottobre 2011
 - Repetto T. et al. "The cystic fibrosis newborn screening in Italy. Survey for assessment of technical-scientific and organizational issues" 35th ECFC, 6-9 June, 2012, Dublin, Ireland
 - Repetto T. et al. "Cystic fibrosis newborn screening in Italy: educational aspect", NACFC 2012, Orlando, Florida, USA
- FFC Project#25/2011 **"DWI (Diffusion weighted Imaging) a new tool to assess inflammation in CF population with pulmonary exacerbation"**

Giovanni Morana (Servizio Fibrosi Cistica, Ospedale Ca' Foncello, Treviso)

Abstracts

- De Leo F. et al. "Functional MR to monitoring cystic fibrosis (CF) lung disease" Chicago RNSA (25-30 novembre 2012)
- De Leo F. et al. "Functional MR to monitoring cystic fibrosis (CF) lung disease" Congresso ESMRMB, 4-6 ottobre 2012, Lisbona
- De Leo F. et al. "Ruolo del Diffusion Weighted Imaging (DWI) nel follow-up di pazienti affetti da fibrosi cistica (FC), 3 Congresso annuale dell'Italian Chapter dell'ISMRM, Napoli, 19 aprile 2012
- De Leo F. et al. "Lung-MRI to monitoring cystic fibrosis (CF) patients with pulmonary exacerbation" 36th ECFS Conference, 12-15 June, 2013 Lisbon, Portugal

• FFC Project#26/2011 **"Testing human monocytes as a new tool for clinical and preclinical research in CF"**

Claudio Sorio (Dip. di Patologia e Diagnostica, Università di Verona), Mario Rosario Buffelli (Dip. Scienze Neurologiche, Neuropsicologiche, Morfologiche e Motorie, Università di Verona)

Publications

- Bellisola et al. "The identification of cystic fibrosis (CF) cells and their pharmacological correction by mid-infrared microspectroscopy and unsupervised data analysis methods" Sciencejet 2014;3:51
- Caldera S. et al. "Challenging the diagnosis of Cystic Fibrosis in a patient carrying the 186-8T/C allelic variant in the CF Transmembrane Conductance Regulator gene" BMC Pulm Med. 2014 Mar 13;14:44. doi: 10.1186/1471-2466-14-44.

• FFC Project#20/2012 **"Early antibiotic treatment for MRSA eradication in cystic fibrosis patients: a randomised multicentre study"**

Giovanni Taccetti (Centro Regionale Fibrosi Cistica, AOU "A. Meyer", Firenze), Diana Costantini (Centro FC, Lab. Patologia Clinica, Fondazione IRCCS Ca' Granda, Milano), Mirella Collura (Centro FC, Ospedale "G. Di Cristina", Palermo), Giuseppe Magazzù (Centro FC, Messina), Valeria Raia (Centro FC, Napoli)

Abstracts

- Cocchi P. et al. "Comparative in vitro activity of temocillin against Burkholderia cepacia complex" Ped Pulmonol 2012 Suppl.
- Cocchi P. et al. "Genetic background of MRSA collected from cystic fibrosis patients versus MRSA collected from Intensive Care Unit (ICU) patients : does any difference exist?" Ped Pulmonol 2012 Suppl.
- Galici V. et al. "Clinical impact of Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus infection in cystic fibrosis patients: a longitudinal multicenter Italian study" Ped Pulmonol 2013 Suppl.
- Galici V. et al. "Early antibiotic treatment for MRSA eradication in cystic fibrosis patients: a randomized multicenter study" 28th North American Conference, 2014, Atlanta, USA, Ped Pulmonol 2014 Suppl
- Cocchi P. et al. "Emergence of a Panton-Valentine leukocidin (PVL) positive MRSA strain in cystic fibrosis patients" J Cyst Fibros 2014; 13:S61
- Neri S, Campana S, Dolce D et Al. "Early antibiotic treatment for mrsa eradication in cystic fibrosis patients: a multicenter RCT" The 30th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, October 27-29, 2016

• FFC Project#21/2013 **"Clinical implications of the natural history of insulin secretory and sensitivity defects in cystic fibrosis"**

Alberto Battizzati (International Center for the Assessment of Nutritional Status (ICANS) - DeFENS Università di Milano), Carla Colombo (Dip. Scienze Materno Infantili, Università di Milano, Centro regionale FC), Andrea Mari (Istituto di Ingegneria Biomedica, ISIB-CNR, Padova)

Publications

- Battezzati A. et al. "Age- and Sex-Dependent Distribution of OGTT-Related Variables in a Population of Cystic Fibrosis Patients" *J Clin Endocrinol Metab.* 2015 Aug;100(8):2963-71

Abstracts

- Battezzati A, Bedogni G, Zazzeron L et al. "Defective beta cell function measured during OGTT is a long term diabetes predictor in cystic fibrosis" *Pediatric Pulmonology*, Volume 49, Issue S38, Article first published online: 4 SEP 2014

- FFC Project#22/2013 **"Citizens' jury and decision making on cystic fibrosis carrier screening: to screen or not to screen?"**

Paola Mosconi (Ist. di Ricerche Farmacologiche "Mario Negri" Laboratory for medical research and consumer involvement), Carlo Castellani (Centro fibrosi cistica, AOUI Verona)

Publications

- Colombo C. et al. "Alla scoperta del portatore sano della fibrosi cistica" *Ric&Pra* 2015;31(2):82-85
- Mosconi P. et al. "Giurie dei cittadini: coinvolgere e deliberare nell'interesse pubblico. Anche l'Italia è un paese di Giurie di cittadini" *Ric&Pra* 2015;31(4):149-158

Abstracts

- Colombo C. et al. "How to provide evidence-based information and translate Cochrane reviews to lay people in a deliberative setting: the Italian and the Australian citizen juries experience on population screening" 23rd Cochrane Colloquium Vienna, 3-7 October 2015
- Castellani C. et al. "Citizens' jury on cystic fibrosis carrier screening: yes or no?" 28th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, 9-11 October 2014 Atlanta, USA.

- FFC Project#23/2013 **"The impact of chest computed tomography on clinical management of CF lung disease"**

Harm Tiddens (Erasmus Medical Centre, Sophia Children's hospital, Department of Paediatric Pulmonology and Department of Radiology, Rotterdam), Baroukh Maurice Assael (Centro fibrosi cistica, AOUI Verona)

Abstracts

- Bortoluzzi C.F. et al. "TAC e RX torace possono influenzare il trattamento clinico dei bambini con FC?" 39th European Cystic Fibrosis Conference, 8 - 11 June 2016, Basel, Switzerland

- FFC#27/2014 **"Transmissibility and clinical significance of Mycobacterium abscessus in patients with cystic fibrosis"**

Tortoli Enrico (Unità Patogeni Batterici Emergenti, Div. di Immunologia, trapianto e Malattie Infettive, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano), Lisa Cariani (Fondazione IRCSS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano), Clelia Di Serio (CUSSB-Centro Universitario di Statistica per le Scienze Biomediche, Università Vita-Salute San Raffaele Milano), Stefan Niemann (Molecular Mycobacteriology, Research Center Borstel)

Abstracts

- Trovato A. et al. "Analysis of *Mycobacterium abscessus* genetic variability provided by 14-locus variable-number tandem-repeat in patients with cystic fibrosis" 36th Annual Congress of the European Society of Mycobacteriology, 28th June - 1st July 2015, Riga, Latvia

- FFC Project#28/2014 **"In vitro study of potential pro-fibrotic effect of Everolimus in different human airway cell lines. Searching for new biomarkers to optimize MTOR-inhibitor immunosuppressive treatment of cystic fibrosis patients undergoing lung transplantation"**

Gianluigi Zaza (Unità di Nefrologia, Dip. di Medicina, Azienda Universitaria Ospedaliera, Verona), Marco Chilosi (Dip. di Patologia e Diagnostica, Università di Verona)

Publications

- Tomei P. et al. "Everolimus-induced epithelial to mesenchymal transition (EMT) in bronchial/pulmonary cells: when the dosage does matter in transplantation" *J Nephrol.* 2016 Dec;29(6):881-891

- FFC Project#29/2014 **"Properties of airway mucus in cystic fibrosis: their modification by changes in the activity of CFTR and after application of bicarbonate"**

Olga Luisa A. Zegarra (U.O.C. Genetica Medica, Istituto "Giannina Gaslini", Genova)

Publications

- Stigliani M. et al. "Rheological properties of Cystic Fibrosis bronchial secretion and in vitro drug permeation study: the effect of sodium bicarbonate" *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv.* 2016 Aug;29(4):337-45
- Gianotti A. et al. "Pharmacological rescue of mutant CFTR protein improves the viscoelastic properties of CF mucus" *J Cyst Fibros.* 2016 May;15(3):295-301

Abstracts

- Stigliani M. et al. "Rheological properties of cystic fibrosis sputum and in vitro drug permeation study" 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th - 17th 2015, Rome, Italy
- Gianotti A. et al. "Properties of airway mucus in cystic fibrosis: effect of bicarbonate", 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th-17th 2015, Rome, Italy
- Gianotti A. et al. "Different pharmacological treatments are able to rescue the viscoelastic properties of CF mucus" 13th ECFS Basic Science Conference, 30 March - 02 April 2016, Pisa, Italy
- Zegarra-Moran O. et al. "Properties of airway mucus in cystic fibrosis: their modification by changes in the activity of CFTR and after application of bicarbonate" 13th Convention of Investigators in cystic fibrosis. Journal of Postdoctoral Research, FFC Proceedings 2015
- Gianotti A. et al. "Pharmacological rescue of mutant CFTR improves the viscoelastic properties of CF mucus" *Cystic Fibrosis Research News* (lay abstract associated to the Journal of Cystic Fibrosis) p295-301. Published online: December 8, 2015

- FFC Project#29/2015 **"Testing CFTR repair in cystic fibrosis patients carrying nonsense and channel gating mutations"**

Claudio Sorio (Dipartimento di Patologia e Diagnostica - Università di Verona), Monica Averna (Dip. di Medicina Sperimentale, sez. di Biochimica - Università di Genova)

Publications

- Sorio C. et al. "Mutations of Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Gene Cause a Monocyte-Selective Adhesion Deficiency" *Am J Respir Crit Care Med.* 2016 May 15;193(10):1123-33
- Averna M. et al. "Abnormal activation of calpain and protein kinase Ca promotes a constitutive release of matrix metalloproteinase 9 in peripheral blood mononuclear cells from cystic fibrosis patients" *Arch Biochem Biophys.* 2016 Aug 15;604:103-12.

Abstracts

- Vercellone S., Caldroni S., Johansson J. et al. "Testing flow cytometry to detect CFTR expression recovery after drug treatment in epithelial cell lines" 13th ECFS Basic Science Conference, 30 March - 2 April 2016, Pisa, Italy
- Sorio C. "The host's and pathogen's sides in cystic fibrosis: some views in an open field" 13th ECFS Basic Science Conference, 30 March - 2 April 2016, Pisa, Italy
- Vercellone S., Caldroni S., Johansson J.E. et al. "Flow cytometric detection of cftr expression recovery after drug treatment in epithelial cell lines and leukocytes" 30th Cystic Fibrosis North American Conference, October 27-29, 2016, Orlando (Florida)

FFC FACILITIES

- **Cystic Fibrosis animal Core facility (CFaCore)**

Alessandra Bragonzi (Fondazione Centro San Raffaele)

Publications

- Bragonzi A. et al. "Murine models of acute and chronic lung infection with cystic fibrosis pathogens" *Int J Med Microbiol.* 2010 Dec;300(8):584-93. Epub 2010 Oct 14. Review
- Facchini M. et al. "Long-term chronic *Pseudomonas aeruginosa* airway infection in mice" *J Vis Exp.* 2014 Mar 17;85
- Kukavica-Ibrulj I FM et al. "Assessing *Pseudomonas aeruginosa* virulence and the host response using murine models of acute and chronic lung infection" *Methods Mol Biol.* 1149:757-71

- **Cystic Fibrosis Database (CFDB)**

Publications

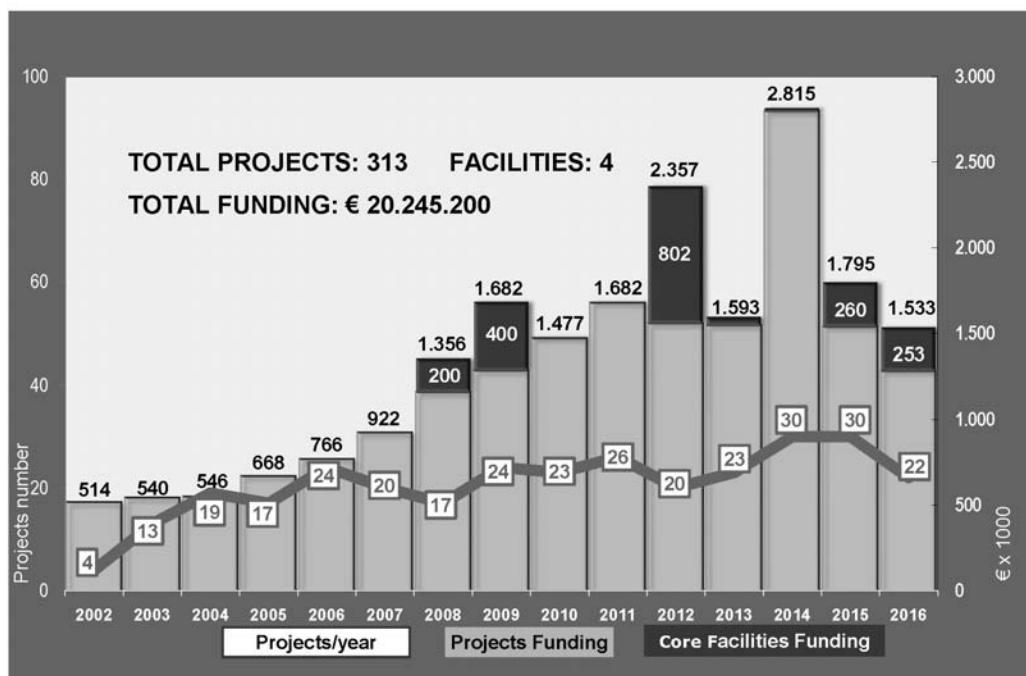
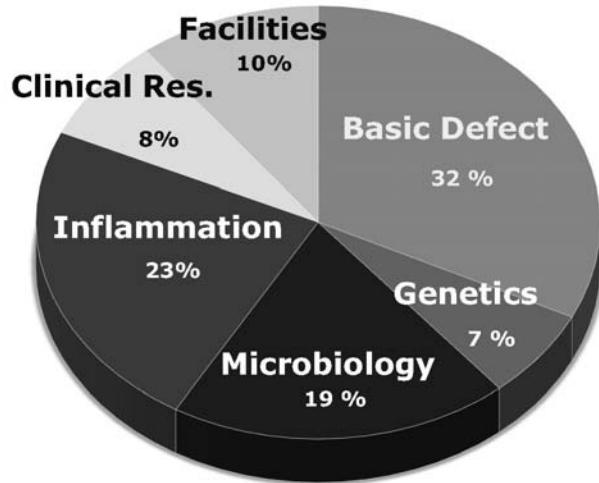
- Buzzetti R et Al. "CFDB (cystic fibrosis database): a new web-based tool for cystic fibrosis specialists". *Pediatr Pulmonol.* 2014 Sep;49(9):938-40

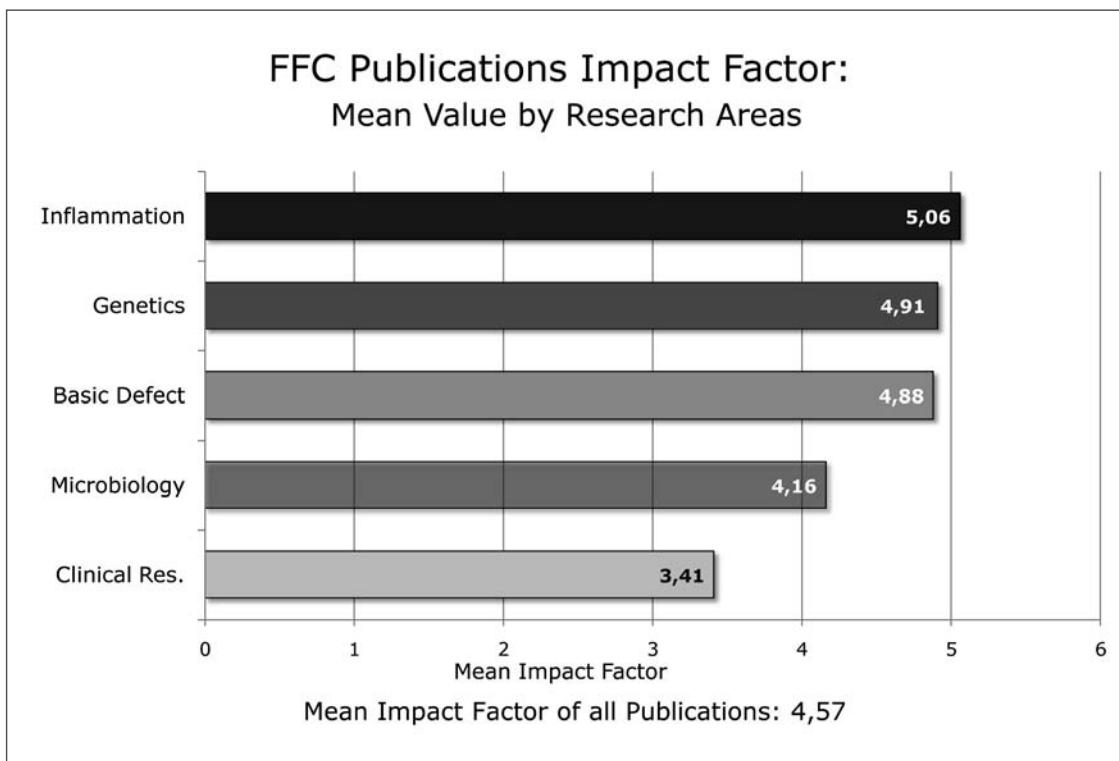
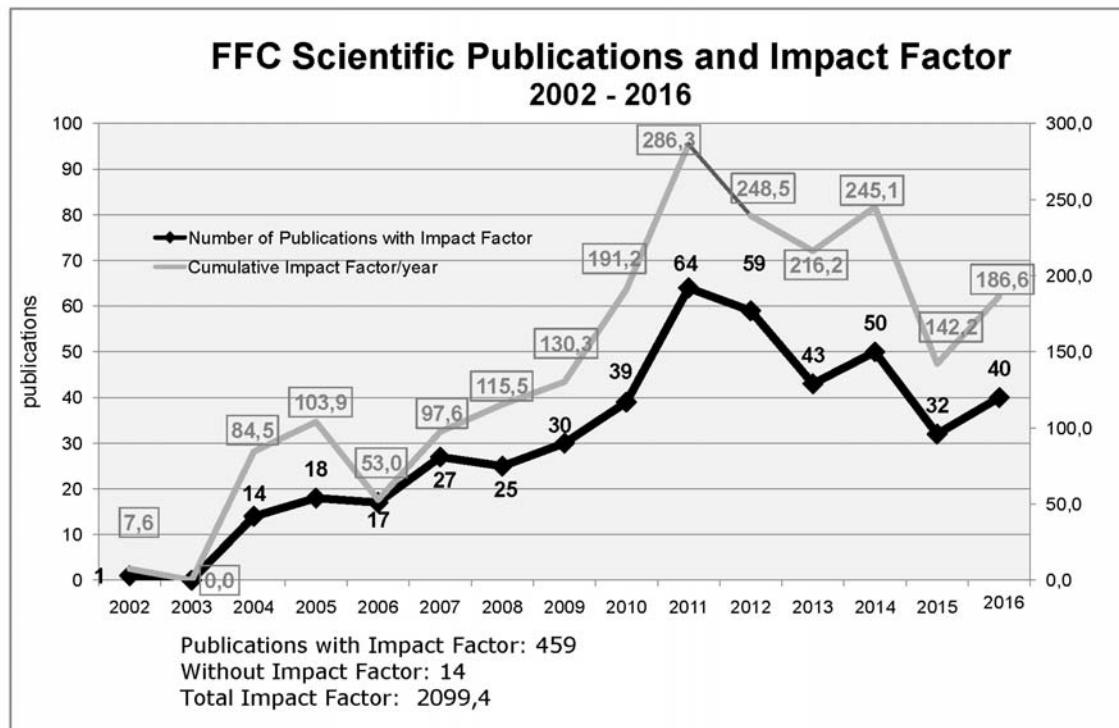
2002-2016 FFC Projects: funding, publications and impact factor

Progetti FFC 2002-2016: finanziamento, pubblicazioni e impact factor

FFC Funding by Research Areas and Facilities (2002 - 2016)

Total Funding: € 20.245.000





Institutes and Laboratories involved in the 313 projects funded by Italian CF Research Foundation 2002-2016

Istituti e Laboratori attivi nei 313 progetti finanziati da FFC dal 2002 al 2016

ITALY

ABRUZZO

- Dip. Scienze Biomediche , Lab Medicina Molecolare, Università "G. D'Annunzio", Chieti
- Dip. Medicina Sperimentale, Università dell'Aquila, L'Aquila
- Dip. Biologia Cellulare ed Oncologia, Consorzio Mario Negri Sud, S. Maria Imbaro (Chieti)
- Dip. Farmacologia Translazionale, Consorzio Mario Negri Sud, Chieti
- Lab. di Biologia e Farmacologia Vascolare, Consorzio Mario Negri Sud, Chieti
- Lab. Medicina Molecolare, Ce.S.I., Universita Chieti-Pescara Centro FC, Teramo

CALABRIA

- Lab. Clinico Patologico -Ospedale di Soverato, Soverato (CZ)

CAMPANIA

- Dip. Biochimica e Biotecnologie Mediche, CEINGE Biotecnologie Avanzate s.c.a.r.l., Università Federico II, Napoli
- Dip. Pediatria, Università Federico II, Napoli - Lab. Microbiologia Funzionale, Università Federico II, Napoli
- Dip. Chimica Tossicologica e Farmaceutica, Univ. Federico II, Napoli - Dip. Farmacologia Sperimentale, Napoli
- Dip. Chimica e Biochimica organica, Univ. Federico II, Napoli - TIGEM, Telethon, Napoli
- Dip. Farmacia, Università di Salerno
- Istituto di Biochimica delle Proteine, CNR, Napoli
- Istituto di Genetica e Biofisica, CNR, Napoli
- Istituto di Chimica Molecolare, CNR, Napoli
- Dip. Biologia Strutturale e Funzionale, Università "Federico II", Napoli
- Centro FC, Napoli
- Istituto di Biostrutture e Bioimmagini, CNR, Napoli
- Dip. di Scienze Mediche Traslazionali, Università di Napoli Federico II, Centro Regionale Fibrosi Cistica
- Dip. di Scienze e Tecnologie Ambientali, Biologiche e Farmaceutiche, Di.S.T.A.Bi.F, Seconda Università di Napoli

EMILIA ROMAGNA

- Plesso Biotecnologico Integrato, Università di Parma, Parma
- Dip. Pediatria, Università di Parma, Parma
- Dip. di Biochimica e Biologia Molecolare, Università di Ferrara, Ferrara
- Dip. Medicina Sperimentale e Diagnostica, Università di Ferrara
- Dip. Biochimica, Istituto Nazionale Ricerca Cardiovascolare, Università di Bologna e Cesena
- Dip. Tecnologie Analitiche Avanzate, Piacenza - Dip. Scienze cliniche, Università degli Studi di Parma
- Dip. Oncologia, Ematologia e Malattie respiratorie, Università degli Studi di Modena
- Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie, Università di Bologna
- Dip. Morfologia, Chirurgia e Medicina Sperimentale, Università di Ferrara, Signal Transduction Lab
- Dip. di Chimica, Università di Parma

FRIULI VENEZIA GIULIA

- International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology (ICGEB)-Trieste
- Dip. di Scienze della Riproduzione e dello Sviluppo - Università di Trieste - I.R.C.C.S. Burlo Garofolo, Trieste
- Dip. Biochimica, Biofisica e Chimica Macrocellulare, Università di Trieste
- Dip. Scienze Biomediche, Università di Trieste
- Dip. Scienze della Vita, Università degli Studi di Trieste

LAZIO

- Dip. Biologia Cellulare e dello Sviluppo -Università La Sapienza, Roma
- Dip. di Biopatologia e Diagnostica per Immagini -Università Tor Vergata, Roma
- Dip. di Biologia -Università Tor Vergata, Roma
- Dip. Biotecnologie Cellulari ed Ematologia -Università La Sapienza, Roma
- Istituto di Clinica Pediatrica, Centro Regionale FC -Università Roma 1 "La Sapienza", Roma
- Dip.di Fisiopatologia Medica -Università La Sapienza, Roma
- Technical Unit for Sustainable Development and Innovation of Agro-Industrial System, ENEA Casaccia Research Center, Lab. Microbiology, Rome
- Lab. di Microbiologia-Ospedale Bambin Gesù-Roma
- Lab. Microbiologia Molecolare -Università La Sapienza, Roma
- Istituto di Microbiologia-Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma
- Dip. Farmacologia, Facoltà di Medicina, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma
- Dip. Microbiologia -Università di Roma 3, Roma
- Dip. Salute Pubblica e biologia cellulare - Università Tor Vergata, Roma
- Dip. Neuroscienze Sperimentali, Fondazione S. Lucia, Roma
- Dip. Scienze di Sanità Pubblica - Univ. "La Sapienza", Roma
- Dip. di Medicina interna e vascolare - Univ. "La Sapienza", Roma
- Lab. di Microbiologia Ospedale Pediatrico Bambin Gesù, Roma
- Serv. Supporto FC, Osp. Bambin Gesù, Roma
- Lab. Microbiologia Molecolare e Biotecnologia dei Microrganismi, Dip. Biologia, "Università Roma Tre"
- Lab. Microbiologia Clinica e Virologia, Dipartimento di Biologia, "Università Roma Tre", Roma;
- Dip. Scienze Biochimiche -Università "La Sapienza", Roma
- Dip. Pediatria e Neuropsichiatria Infantile, Università "La Sapienza"
- Centro fibrosi cistica, Policlinico Umberto I
- Dip. Salute pubblica e Malattie Infettive, Università "La Sapienza", Roma
- Dip. Biologia e Biotecnologie, Università "La Sapienza", Roma
- IRBM Science Park, Roma
- Dip. Malattie Infettive, Parassitarie e Immunomediate, Istituto superiore di sanità, Roma

LIGURIA

- Istituto di Biofisica -CNR, Genova
- Università di Genova, Genova- Lab. di Fisiopatologia dell'Uremia - Istituto G. Gaslini, Genova
- Lab. Genetica umana E.O. Ospedali Galliera, Genova
- Lab. Genetica Molecolare -Istituto G. Gaslini, Genova
- Lab. Medicina Molecolare -Istituto G. Gaslini, Genova
- Lab. Centrale Analisi -Istituto G. Gaslini, Genova
- Sezione Microbiologia -DISCAT, Genova
- ARPAL (Agenzia Reg. Protezione Ambiente Ligure), Genova
- Lab. Diagnostica e Ricerca Malattie Infettive, Dip. Pediatria Istituto G. Gaslini, Genova
- Dip. Pediatria - Lab. Microbiologia - Istituto G. Gaslini, Genova
- Dip. Pediatria - Centro Fibrosi Cistica - Istituto G. Gaslini, Genova
- Sezione di Epidemiologia e Biostatistica, Istituto G. Gaslini, Genova
- Dip. Medicina Sperimentale - Università di Genova
- Lab. Fisiopatologia molecolare dei canali ionici - Centro Biotecnologie Avanzate, Ist. Gaslini, Genova
- Dip. Farmacia (DIFAR), Università di Genova

LOMBARDIA

- Istituto Statistica e Biometria-Università di Milano, Milano
- Dip. Medicina Specialistica e dei Trapianti-Ospedali Riuniti, Bergamo
- Dip. Immunologia e Clinica dei Trapianti - Ospedali Riuniti, Bergamo
- Lab. Genetica Medica A. O. Istituti Clinici di Perfezionamento, Milano
- Dip. Bioscienze - Università degli Studi di Milano, Milano
- Dip. Genetica e Microbiologia - Università di Pavia, Pavia
- Dip. Pediatria, Centro Fibrosi Cistica - Fondazione IRCCS, Policlinico Mangiagalli e Regina Elena, Milano
- Lab. Microbiologia, Centro Fibrosi Cistica, Milano
- Unità di Genomica per Diagnosi di Patologie Umane-Fondazione Centro San Raffaele, Milano
- Istituto per le Tecnologie Biomediche, CNR, Segrate (MI)
- Lab. Ricerca Clinica -Istituto per la Ricerca Farmacologica "M. Negri", Milano
- Dip. Chimica Organica ed Industriale, Università di Milano
- Dip. Scienze Molecolari Agroalimentari, Univ. di Milano
- Dip. Biotecnologie e Bioscienze, Università Bicocca, Milano
- Dipartimento di chirurgia e medicina interdisciplinare - Università Bicocca, Milano
- Div. Immunologia, Trapianti e Malattie infettive - Istituto "San Raffaele", Milano
- Istituto di Ricerche Chimiche e Biochimiche, Istituto "G. Ronzoni", Milano
- Dip. Biologia e Genetica per le Scienze Mediche, Università degli Studi di Milano
- Lab. Biologia Clinica Molecolare e Citogenetica, Università Vita-Salute HSR, Milano
- Unità Patogeni Batterici Emergenti, Div. di Immunologia, trapianto e Malattie Infettive, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano
- Centro Universitario di Statistica per le Scienze Biomediche, Università Vita-Salute San Raffaele Milano
- Istituto Ricerche Farmacologiche Mario Negri, Lab. for medical research and consumer involvement
- Dip. Medicina Clinica e Prevenzione, Università Bicocca, Milano
- Lab. Biochimica e Biologia Molecolare, Dip. Medicina, Ospedale S. Paolo, Università degli Studi di Milano
- Dip. Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano
- Dip. Ingegneria Strutturale, Politecnico di Milano
- Centro FC, Lab. Patologia Clinica, Fondazione IRCCS, Ca' Granda, Milano
- Istituto europeo per la ricerca sulla fibrosi cistica (I.E.R.F.C.) Fondazione ONLUS c/o HSR, Milano
- Dip. Medicina Molecolare e Traslazionale, Università degli Studi di Brescia
- Dip. Scienze della Salute, Facoltà di Medicina, Università di Milano

- International Center for the Assessment of Nutritional Status (ICANS) - DeFENS Università di Milano
- Humanitas University, Rozzano, Milano
- Computational Sciences, Chemical Core Technologies Department, Nerviano Medical Sciences Srl, Nerviano, (MI)
- Dip. Biotecnologie Mediche e Medicina Traslazionale, Università di Milano, Segrate (MI)
- Dip. Biochimica Medica e Medicina Traslazionale, Università di Milano
- Università di Brescia, Ospedale dei Bambini, AO Spedali Civili, Brescia
- Dipartimento di Elettronica, Informazione e Bioingegneria, Università di Milano

MARCHE

- Centro Fibrosi Cistica - Ospedale dei Bambini - Centro FC, Ancona

PIEMONTE

- Centro FC Adulti Divisione Malattie Respiratorie, Dip. di Scienze Biologiche e Cliniche-Università di Torino, Ospedale S. Luigi Gonzaga, Orbassano (TO)
- Dip. di Genetica, Biologia e Biochimica -Università di Torino,Torino
- Dip. di Patologia Clinica, S.S. di Diagnostica Molecolare e Test Genetici Integrati, Torino
- Dip. Discipline medico chirurgiche, Sez. Anestesia e rianimazione, Univ. Torino
- Dip. di Scienza e Tecnologia del Farmaco, Università di Torino
- Dip. di Scienze cliniche e biologiche, Università di Torino
- Centro di biotecnologia molecolare, Università di Torino
- Dip. di Biotecnologia Molecolare e Scienze della Salute, Università di Torino

PUGLIA

- Dip. Fisiologia Generale ed Ambientatale - Università di Bari, Bari
- Servizio Fibrosi Cistica-Ospedale di Cerignola, Cerignola
- Dip. Scienze Biomediche - Università di Foggia
- Dipartimento di Pediatria -Policlinico - Università di Bari
- Istituto Biomembrane e Bioenergetica, CNR, Bari

SARDEGNA

- Dip. di Scienze biomediche e biotecnologie, Lab. Genetica Molecolare -Ospedale Reg. Micocitemie, Università di Cagliari
- Dip. Tossicologia - Sez. Patologia e Oncologia Molecolare, Università di Cagliari

SICILIA

- Istituto di Biofisica-CNR, Palermo
- Centro Fibrosi Cistica-Policlinico, Messina,
- Centro Regionale FC-Ospedale dei Bambini "G. di Cristiana", Palermo
- Istituto per lo Studio dei Materiali Nanostrutturati, CNR, Palermo
- Dipartimento Scienze e Biotecnologie Molecolari e Biomolecolari, Università degli Studi di Palermo
- Dipartimento di Biologia, Scienze Chimiche e Farmaceutiche e Tecnologie -STEBICEF, Sez. di Biologia Cellulare, Università degli Studi di Palermo

TOSCANA

- Dip. Biologia Animale e Genetica-Università di Firenze, Firenze
- Lab. Proteomica Funzionale, Dip. Biologia Molecolare -Università di Pisa, Pisa
- Dip. Pediatria-Centro Fibrosi Cistica - Ospedale Meyer, Firenze
- Servizio Fibrosi Cistica-Ospedale di Livorno, Livorno
- Dip. Patologia Sperimentale, Biotecnologie Mediche, Infettivologia ed Epidemiologia -Università di Pisa, Pisa
- Unità Bioinformatica, Centro di Ricerche Chiron, Siena
- Lab. Fisiologia Microbica e Biotecnologia, Dip. Biologia

- Molecolare, Policlinico "Santa Maria alle Scotte", Università di Siena
- Dipartimento Diagnostica di Laboratorio Servizio di Diagnosica Genetica - Azienda Ospedaliero Universitaria Careggi, Firenze
 - Dip. Biologia Molecolare, Sez. Chimica Biologica - Università di Siena
 - Dip. Biotecnologia, Chimica e Farmacia, Università di Siena
 - Dip. Biotecnologie Mediche, Università di Siena
 - Dip. Scienze Farmaceutiche, Università degli Studi di Firenze
 - Dip. Biologia dell'Evoluzione, Università degli Studi di Firenze
 - Dip. Scienze Sanitarie, Unità di Farmacologia Clinica e Oncologica, Università di Firenze
 - Dip. Ricerca Traslazionale NTMS - Lab. Patologia Generale, Università di Pisa
 - Dip. di Scienze della Salute, Università degli Studi di Firenze

UMBRIA

- Dipart. Medicina Interna - Sez. Biochimica Applicata e Scienze Nutrizionali - Università degli Studi di Perugia
- Dipart. Medicina Sperimentale e Scienze Biomediche - Università degli Studi di Perugia
- Dip. Biotecnologie, Università di Siena

VENETO

- Medicina Interna, Università degli Studi di Verona, Verona
- Istituto Veneto Medicina Molecolare, Padova
- Servizio Clinico di Genetica e Screening neonatale, Centro Fibrosi Cistica, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata, Verona
- Dip. di Patologia, Sezione immunologia, Università degli Studi di Verona, Verona
- Sezione di Anatomia ed Istologia, Dip. di Scienze Morfologico-Biomediche, Università degli Studi di Verona, Verona
- Lab. Patologia Molecolare, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata, Verona
- Centro Fibrosi Cistica, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata, Verona
- Dip. Scienze della Vita e della Riproduzione, Sezione di Biologia e Genetica, Università degli Studi di Verona
- Dip. Scienze Biomediche e Chirurgiche, Divisione di Nefrologia -Università degli Studi di Verona, Verona
- Dip. di Patologia e Diagnostica - Patologia Generale - Università degli Studi di Verona, Verona
- Dip. di Patologia e Diagnostica, Università di Verona, Lab. di Traffico Cellulare e Trasduzione del segnale
- Lab. di Microbiologia, Azienda Ospedaliera Universitaria di, Verona
- Facoltà di Scienze della Formazione, Università degli Studi di Verona, Verona
- Dip. Scienza e Tecnologia del Farmaco, Università degli Studi di Verona, Verona
- Dip. Scienze del Farmaco, Università degli Studi di Padova
- Dip. Scienze Biomediche, Università degli Studi di Padova
- Dip. Scienze Neurologiche e del Movimento - Università degli Studi di Verona
- Servizio fibrosi cistica, Ospedale Ca' Foncello, Treviso
- Ist. di Clinica Pediatrica, AO e Università degli studi Padova
- Istituto di Ingegneria Biomedica, ISIB-CNR, Padova
- Dip. di Diagnosi e Salute Pubblica, Sezione di Microbiologia, Università di Verona

EUROPE

BELGIUM

- Dept. of Clinical Chemistry, Catholic University of Louvain - St. Luc University Hospital, Louvain
- Louvain Centre for Toxicology and Applied Pharmacology (LTAP), Université catholique de Louvain, Brussels
- Lab. of Molecular Bacteriology ULB, Faculty of Medicine, Bruxelles

FRANCE

- Institute of Cell Physiology and Biology, University of Poitiers
- Pediatric Cystic Fibrosis Center of Trousseau Hospital - Inserm U938 / UPMC, Paris
- Centre de Recherche des Cordeliers, Paris, INSERM U1138
- Necker-Enfants Malades Hospital, AP-HP Laboratory of General Biochemistry, Paris
- Hôpital Cochin, Paris
- St-Antoine Research Center, Inserm, Paris

GERMANY

- Institute of Medical Microbiology and Hygiene, University of Tübingen
- Institute für Medizinische Mikrobiologie, Universtats Klinikum, Munster
- Molecular Mycobacteriology, Research Center Borstel
- Institute of Physiology I, Life & Brain Center, University of Bonn

IRELAND

- Queen's University Belfast, Respiratory Medicine Research Group, Belfast

SWITZERLAND

- Dept. of Pediatrics, University Hospital and Faculty of Medecine, Geneva
- Polyphor Ltd, Switzerland, Geneva

THE NETHERLANDS

- Dept. Gastroenterology & Hepatology, Erasmus University Medical Center, Rotterdam

UNITED KINGDOM

- Dept. of Respiratory Medicine, Freeman Hospital, The Medical School University of Newcastle
- School of Biological Science, University of Liverpool
- Division of Pharmacology, Pharmacy and Biomedical Science, University of Portsmouth
- Epithelial Research Group, Institute for Cell and Molecular Biosciences, University Medical School, Newcastle University, Newcastle upon Tyne
- Faculty of Life Sciences, University of Manchester, Manchester

OUTSIDE EUROPE

CANADA

- Dept. of Microbiology and Immunology, University of Western Ontario, London, Ontario, Canada

ISRAEL

- Schulich Faculty of Chemistry Technion - Israel Institute of Technology, Haifa
- Dept. of Biological Chemistry, The Weizmann Institute of Science, Haifa
- Clinical Microbiology and Immunology, Tel Aviv University
- Department of Clinical Microbiology and Immunology, Sackler Faculty of Medicine, Tel Aviv University

UNITED STATES

- Dept. Pediatrics, Respiratory Medicine, Yale University School of Medicine, USA
- Department of Environmental and Occupational Health, University of Pittsburgh, USA
- University of South Alabama College of Medicine, Department of Biochemistry & Molecular Biology, Mobile
- Marsico Lung Institute/Cystic Fibrosis Research Center, University of North Carolina at Chapel Hill

Appendix 4

International Reviewers of FFC Projects (2002-2016)

ASIA

Hong Kong
Dennis Lo Yuk Ming

India

Vikas Gautam
Amit Misra

Israel

Batsheva Kerem
Orit Reish
Hanoch Senderowitz

Turkey

Duygu Gözen

Japan

Hiroshi Kubo

AUSTRALIA

Scott Bell
Margaret Cooley
Martin Delatycki
Tim Kidd
Manohar Garg
Allan Glanville
John Massie
John Mattick
David Reid
Louis Rendina
Cynthia Withchurch

EUROPE

Austria
Thomas Eiwegger

Belgium

Karim Amighi
Gilles Brackman
Jean Jacques Cassiman
Tom Coenye
Pierre Cornelis
Harry Cuppens
Christiane De Boeck
Ingeborg Liebaers
Savvas Savvides
Peter Vandamme

Czech Republic
Jan Krejsek

Denmark

Thomas Bjarnsholt
Oana Ciofu
Niels Højby
Christian Koch
Marie Johannesson
Jette Elisabeth Kristiansen
Søren Molin

France

Emmanuel Andres
Frederic Becq
Frank Brouillard
Mireille Claustras
Christelle Coraux
Laurent Debarbieux
Laurence Delhaes
Isabelle Durieu

Alexander Edelman

Brigitte Fauroux
Claude Ferec
Chantal Gauthier
Emanuelle Girodon
Vincent Goffin
Aurélie Goyenvalle
Genevieve Hery Arnaud
Jacky Jaquot
Jean Paul Latgé
Patricia Lemarchand
Christine Linard
Olivier Mignen
Anne Munck
Patrizia Paterlini-Bèchot
Jean-Marc Rolain
Marie Catherine Romey
Juliet Royet
Isabelle Sermet
Virginie Scotet
Olivier Tabary
Pascal Trouvè
Clarisse Vandebrouck

Germany

Robert Bals
Michael De Vrese
Jahn Dieter
Gerd Döring
Stephan Fischer
Christoph Freiberg
Matthias Griese
Erick Gulbins
Dominik Hartl
Andreas Hector
Jürgen Heesemann
Barbara Kahl
Winfried Kern
Wolfgang Kuebler
Karl Kunzelmann
Jochen G. Mainz
Frank-Michael Müller
Markus Pietsch
Hermann Schillers
Ursula Seidler
Stefan Stamm
Gratiana Steinkamp
Burkhard Tuemmler
Martin Ulrich
Christiane Wolz

Greece

George Makrydimas

Ireland

Colum Dunne
Siobhán McClean
Irene Oglesby
Emer Reeves

Italy

Guido Antonelli
Giovanna Batoni
Flavia Bazzoni
Antonio De Flora
Fabrizio De Ponti
Luis Juan Vincente Galietta
Silvio Garattini
Marco Lucarelli
Oscar Moran
Marco Trabucchi

Portugal

Margarida Amaral
Jorge Leitão

Spain

Raquel Barrio
Jaume Bertranpetti
Ana Bustamante-Aragones
Rafael Cantón
Xavier Estivill

Sweden

Gunnar C. Hansson
Ute Romling
Birgitta Strandvik
Craig Wheelock
Peter Zygmunt

Switzerland

Leo Eberl
Dieter Haas
Hans Peter Fisher
Adin Ross-Gillespie
Bernard Rossier

The Netherlands

Jeffrey Beekman
Touw Daan
Hugo De Jonge
Peter Klijn
Lidewiji Henneman
Peter JFM Merkus
Charlotte Robroeks
Bernt Van Der Blink

U.K. – Northern Ireland

Matthew Avison
Maria G. Belvisi
Charlotte Billington
James Birchall
Marina Botto
Malcolm Brodlie
Alan R. Cowley
Andrew Bush
Philip Calder
Steven Conway
Jane Davies
Louise Donnelly
Robert Dorner
Alistair Duff
Stuart Elborn
Madeleine Ennis
Glenda Esmond
Thomas Evans
Alain Filloux
Andres Floto
Paul Foster
Peter Gahan
Claire Glasscoe
John Govan
Michael Gray
Robert Gray
Catherine Greene
Andrew Greening
Uta Griesenbach
Alexander Horsley
Anil Mehta
Maurice Hallett
Andrew Jones
Julian Parkhill
Mauro Perretti
Tyrone Pitt
Daniela Riccardi

Geraint Rogers
Martin Savage
David Sheppard
David Smith

Maurice Super
Hui-leng Tan
Sabeel Valappil
Ludovic Vallier
Paola Vergani
John Widdicombe
Craig Winstanley

NORTH AMERICA

CANADA

Christine Bear
André Cantin
Tom Clandinin
Elizabeth Cowley
Lori Burrows
Peter Durie
Tanja Gonska
Hartmut Grasemann
Bob Hancock
Yeger Herman
Sheila Innis
Roger Levesque
Paul Linsdell
Gergerly Lukacs
Tong-jun Lin
Liu Mingyao
Robert Newton
Michael Parkins

Grace Parraga
Paul Pencharz
Danuta Radzioch
Felix Ratjen
Andrew Sandford
Molly Schmid
Aaron Shawn
Christopher Sibley
Pamela Sokol
David Speert
Miguel Valvano
Valerie Waters
Michael Wheeler
Herman Yeger
Julian Zielensky

U.S.A.

Alabama
Bakhrom K. Berdiev
David Bedwell
John Paul Clancy
Lisa Schwiebert
Robert Wang

California
William Balch
Annelise Barron
Carroll Cross
Beate Illek
Ryan Hunter
Ronald Kopito
Terry Machen
Richard Moss
Malla M. Reddy
Evan Powers
Paul Quinton
Charles M. Strom
Alan Verkman
Jeffrey Wine

Colorado	Maryland	David Goldfarb	South Carolina
Frank Accurso	Biswas Roopa	Cole Haynes	Patrick Flume
Brian Day	Gary Cutting	Alice Prince	Tennessee
Brian Doctor	Robert K. Ernst	Lisa Saiman	John Christman
Jonathan Harris	William Guggino	Patricia Sime	Michael Laposata
Jerry A. Nick	Andy Kilianski	Stefan Worgall	Vasiliy V. Polosukhin
Scott Sagel	Sam Lai	Tilla S. Worgall	Texas
Herbert Schweizer	Gary Mansfield	North Carolina	Carolyn Cannon
Jeff Wagener	Christian Merlo	Adler Kenneth B.	Brian R Davis
Marty Zamora	Peter Mogayzel	Robert Aris	Philip Thomas
Connecticut	Amanda Oglesby-Sherrouse	Michael Boyle	Utah
Nadia Ameen	Kenneth N. Olivier	Douglas Cyr	Valerie Hudson
Diane Krause	Jonathan Orens	Charles Esther	Guy Zimmerman
Joseph L. Kuti	Harvey Pollard	Martina Gentzsch	Vermont
Curt Scharfe	Keith J. Slifer	Andrew Ghio	Daniel J. Weiss
Li Tianbo	Jerry Wright	Mehmet Kesimer	Virginia
Florida	Pamela Zeitlin	Michael Knowles	Joanna Goldberg
Alexander Cole	Massachusetts	Marianne Muhlebach	Dennis E. Ohman
Alexandra Quittner	Martin Joyce-Brady	John Riordan	Bruce Rubin
Georgia	Terence Flotte	Gabriel Sherif	Washington
Scott Grosse	Steven Freedman	Robert Tarran	Moira Aitken
Rabindra M. Tirouvanziam	Bryan Hurley	Ohio	Jane Burns
Illinois	Robert Kolter	Amal Amer	Chris Goss
John Christman	John Ladis	Melvin Berger	E. Peter Greenberg
Ann Harris	Bruce Levy	Maria Britto	Lucas Hoffmann
Anver Kuliev	Stephen Lory	James Chmiel	Samuel I. Miller
Le Shen	Gerald Pier	Mitchell Drumm	Matt Parsek
Lee Shulman	Stefan Ryter	Dana S. Hardin	Margaret Rosenfeld
Jerrold Turner	Gregory Sawiki	Daniel Hassett	Wisconsin
Indiana	Charles Serhan	Scott Herness	Philip Farrel
Roman Dziarski	Susan Slaugenhouette	Craig Hodges	Don Sanders
Won Kyoo Cho	Michigan	Lloyd Horrocks	
Irina Petracche	Daniel Klionsky	Valerie Hudson	
Iowa	John Li Puma	Christopher Karp	Brazil
Dwight C. Look	Mary O'Riodan	Thomas J. Kelley	Margaret Cristina da Silva
Patrick Sinn	Kathleen Stringer	Michael Konstan	Boguszewski
Ziying Yan	Minnesota	Sanjay Rajagopalan	Veralice Meireles Sales de
Joseph Zabner	Robert C. Huebert	Adriano Tonelli	Bruin
Kansas	Mark Kurth	Daniel Wozniak	Mauro M. Teixeira
John Gatti	Antoinette Moran	Oregon	
Kentucky	Missouri	David C. Dawson	
Stefan Stamm	Carolyn Cannon	Bruce L. Geller	Costa Rica
Jay Zwischenberger	Thalachallour Mohanakumar	Xuheong Liu	Arturo Solis
Joseph Zwischenberger	New Hampshire	Pennsylvania	
Louisiana	Dean Madden	Robert Bucki	
Jay K. Kolls	George A. O'Toole	Raymond Frizzell	
Guoshun Wang	New York	David Orenstein	
Maine	Isabel Aznarez	Douglas Wilson	Venezuela
Robert Owens	Nazzareno Ballatori		Juan Bautista De Sanctis

Acknowledgment

The Italian Cystic Fibrosis Research Foundation (FFC) wishes to thank all the reviewers who have so far contributed to evaluate research proposals submitted annually to the Foundation. Their strong commitment to critical analysis and targeted suggestions have helped to optimally qualify the activities of the FFC research network.

FFC Research funding (1997-2016)

Appendix 5

CF research costs supported by FFC Foundation (€)																
Research area	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2002-2016
1. CFTR physiopathology & new therapy	263.000	238.000	76.000	205.000	220.000	195.000	375.000	470.000	235.000	565.000	355.000	1.604.000	487.000	665.000	6.158.000	
2. Genetics	90.000	113.000	110.000	80.000	113.000	195.000	130.000	310.000	60.000	78.000	6 proj.	9 proj.	12 proj.	92 proj.	1.279.000	
3. Microbiology	18.000	105.000	95.000	145.000	232.000	291.000	260.000	270.000	395.000	373.000	343.000	336.000	230.000	440.000	190.000	3.723.000
4. Inflammation	211.000	55.000	163.000	123.000	113.000	163.000	345.000	295.000	485.000	520.000	440.000	529.000	615.000	250.000	160.000	4.467.000
5. Epidemiology & Clinical Res	20.000	53.000	31.000	75.000	70.000	85.000	130.000	35.000	140.000	120.000	180.000	153.000	273.000	120.000	38 proj.	1.485.000
Core Facilities							200.000	400.000	Quantigen (3 yrs)	CfCore (3 yrs)	Primary Cult. (3 yrs)	Primary Cult.	CFDB	CFDB	Primary Cult.	253.000
Direct costs	492.000	508.000	614.000	705.000	857.000	1.280.000	1.600.000	1.391.500	1.585.200	2.270.000	1.510.000	2.700.000	1.710.000	1.438.000	19.160.700	
Research projects	4 proj.	13 proj.	19 proj.	24 proj.	20 proj.	17 proj.+1F.	24 proj.+1F.	23 proj.+1F.	26 proj.+1F.	20 proj.+3F.	23 proj.+1F.	30 proj.+1F.	30 proj.+3F.	22 proj.+3F.	313 proj.+4F.	
Management costs	21.500	32.000	46.000	54.000	61.000	65.000	76.000	82.000	85.000	97.000	87.000	83.000	115.000	85.000	95.000	1.084.500
TOTAL COSTS	513.500	540.000	546.000	668.000	766.000	922.000	1.356.000	1.682.000	1.476.500	1.682.200	2.357.000	1.593.000	2.815.000	1.795.000	2.022.217	20.245.000

Research investment 2002 - 2016: 20.245.000 €

Research support at Verona CF centre 1997 - 2002: 777.217 €

Total research investment 1997 - 2016:

21.022.217 €

Appendix 6

FFC projects (2014-2016) presented at the 14th Convention and adopted by FFC Supporters (**)

Progetti FFC (2014-2016) presentati alla XIV Convention e adottati da Sostenitori FFC

Progetto strategico 2014

Progetto FFC/TFCF "Task Force for Cystic Fibrosis"

Responsabile: Luis Galletta (Lab. Genetica Molecolare, Istituto G. Gaslini, Genova). Partner Tiziano Bandiera (IIT Genova)

Costo: € 1.250.000

- Fase 1: € 200.000

Adottato parzialmente da: **Energy T.I. Group S.p.A. Milano** (€ 100.000), **LIFC Associazione Siciliana Onlus in ricordo di Davide Radicello** (€ 20.000), **Danone SpA** (€ 50.000)

- Fase 2: € 370.000

Adottato parzialmente da: **Amici per la Ricerca Loifur srl** (€ 35.000), **Famiglia per la Ricerca FC** (€ 40.000), **Fondazione Corrado e Bruno Maria Zaini** (€ 35.000)

- Fase 3: € 680.000

Adottato parzialmente da: **Dekra SpA** (€ 25.000), **Fondazione Corrado e Bruno Maria Zaini** (€ 35.000), **Brandart** (€ 10.000), **Rortos srl** (€ 10.000), **Piazzalunga srl** (€ 10.000), **"Uno swing per la ricerca"** (Delegazione FFC di Villa d'Almè) (€ 18.600), **Quota parziale Cinque per mille 2014** (€ 130.000)

FFC#1/2014

Identificazione e validazione di nuove molecole ottenute da studi computazionali e saggi biologici per il superamento di codoni di stop prematuri in cellule FC.

Responsabile: Laura Lentini (Dip. di Biologia, Scienze Chimiche e Farmaceutiche e Tecnologie -STEBICEF, Sez. di Biologia Cellulare, Università di Palermo)

Costo: € 38.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Palermo e di Vittoria Ragusa Catania 2**

FFC#2/2014

Un approccio razionale nello sviluppo di nuovi farmaci per il trattamento della Fibrosi Cistica.

Responsabile: Alberto Luini (Centro Nazionale Ricerche, Dip. di Scienze Biomediche, Istituto di Biochimica delle Proteine, Napoli)

Costo: € 80.000

Adottato totalmente da: **Loifur Srl** (€ 10.000), **Delegazione FFC di Imola e Romagna** (€ 30.000), **Gli Amici per la Ricerca di Bassano 2014** (€ 25.000), **Maserati SpA** (€ 15.000).

FFC#3/2014

CFTR in organoidi epiteliali: rilevanza per lo sviluppo di farmaci e la diagnosi della fibrosi cistica.

Responsabile: Paola Melotti (Centro Fibrosi Cistica, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona)

Costo: € 30.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Treviso Montebelluna "La Bottega delle Donne"**

FFC#4/2014

La struttura molecolare e il ripiegamento dell'intero Regolatore Transmembrana della Fibrosi Cistica (CFTR): siti per i correttori.

Responsabile: Oscar Moran (Istituto di Biofisica, Consiglio Nazionale delle Ricerche-CNR, Genova)

Costo: € 45.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Bologna**

FFC#5/2014

Un approccio basato su piccoli RNA per la correzione dei difetti di splicing del gene CFTR: analisi delle efficacia in cellule primarie bronchiali.

Responsabile: Franco Pagani (Centro Internazionale di Ingegneria

Genetica e Biotecnologie - ICGB, Trieste)

Costo: € 38.000

Adottato totalmente da: **Gruppo di Sostegno FFC di Sassari Castelsardo** (€ 15.000), **Delegazione FFC di Minerbe** (€ 23.000)

FFC#6/2014

Sviluppo di nuove procedure per l'identificazione di farmaci diretti verso il recettore CFTR: un approccio multidisciplinare mediante saggi di interazione in risonanza plasmonica di superficie supportata da strategie bioinformatiche su infrastrutture HPC.

Responsabile: Marco Rusnati (Dip. di Medicina Molecolare e Traslazionale, Università di Brescia, Unità Analisi Interazione Macro-molecolare-Sez. di Oncologia Sperimentale e Immunologia)

Costo: € 38.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Foggia** (€ 8.000), **Latteria Montello S.p.A.** (€ 15.000), **Delegazione FFC di Manciano - Grosseto** (€ 15.000)

FFC#7/2014

Un approccio chinasi-diretto per ristabilire la funzionalità di F508delCFTR.

Responsabile: Andrea Venerando (Dip. Scienze Biomediche, Università di Padova)

Costo: € 40.000

Adottato totalmente da: **Open d'Italia Golf**

FFC#8/2014

Disegno e sintesi di analoghi della trimetilangelicina (TMA) per ottimizzare le applicazioni cliniche per la fibrosi cistica: attività anti-infiammatoria, potenziatore CFTR e correttore CFTR

Responsabile: Roberto Gambari (Dip. di Scienze della Vita e Biotecnologie, Sez. di Biochimica e Biologia Molecolare, Università di Ferrara)

Costo: € 45.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Bologna** (€ 30.000), **Delegazione FFC di Ferrara** (€ 15.000)

FFC#9/2014

Geni modificatori legati alla malattia polmonare da *Pseudomonas aeruginosa* in fibrosi cistica.

Responsabile: Alessandra Bragonzi (Unità di Infezioni e Fibrosi cistica, Divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie infettive, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano)

Costo: € 78.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Milano**

FFC#10/2014

Indagine del microbioma delle vie aeree nei pazienti con fibrosi cistica che presentano un severo declino della funzione polmonare: un'opportunità per una terapia personalizzata basata sul microbioma.

Responsabile: Annamaria Bevivino (Unità Tecnica per il Sistema di Sviluppo Sostenibile e Innovazione AgroIndustriale, ENEA Agenzia Nazionale Italiana, Centro Ricerche Casaccia, Roma)

Costo: € 48.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Villa D'Almè Bergamo** (€ 10.000), **Gruppo di Sostegno FFC di Reggello Firenze** (€ 10.000), **Gruppo di Sostegno FFC di Lainate** (€ 10.000), **Delegazione FFC di Verbania V.C.O.** (€ 18.000)

FFC#11/2014

Sviluppo e test preclinico di un nuovo peptide antimicrobico per il trattamento di infezioni polmonari indotte da *Pseudomonas aeruginosa*.

Responsabile: Maria Luisa Mangoni (Dip. di Scienze Biochimiche, Università "La Sapienza", Roma)

Costo: € 53.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Siena** (€ 20.000), **Delegazione FFC di Sondrio Valchiavenna** (€ 10.000), **Delegazione FFC il Sorriso di Jenny** (€ 8.000), **Delegazione FFC di Pavia** (€ 15.000)

FFC#12/2014

Polveri inalabili per la somministrazione di peptidi antimicrobici umani (CAMP) chimicamente modificati: verso l'applicazione in vivo.

Responsabile: Eugenio Notomista (Dip. di Biologia, Università di Napoli "Federico II")

Costo: € 22.000

Adottato totalmente da: **Antonio Guadagnin e Figlio** (€ 8.000), **Delegazione FFC di Olbia Tempio** (€ 14.000)

FFC#13/2014

Utilizzo di inibitori della proteina Disolfuro Isomerasi extracellulare per controllare le infezioni polmonari da Burkholderia cenocepacia.

Responsabile: Francesca Pacello (Dip. di Biologia, Università di Roma "Tor Vergata")

Costo: € 41.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Olbia Tempio** (€ 8.000), **Delegazione FFC di Catania con i negozi Claudio Miceli** (€ 23.000), **Delegazione FFC di Villa D'Almè - Bergamo** (€ 10.000)

FFC#14/2014

Sviluppo di BMAP18 come farmaco peptidico per le infezioni polmonari batteriche: uno studio per migliorarne l'efficacia nell'ambiente polmonare della FC

Responsabile: Marco Scocchi (Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Trieste)

Costo: € 26.000

Adottato totalmente da: **Studio Gia.Da. Onlus**

FFC#15/2014

Infezioni nei pazienti con fibrosi cistica: effetto delle variazioni genetiche di PTX3 sulla produzione e sulle funzioni della PTX3 endogena.

Responsabile: Cecilia Garlanda (Fondazione Humanitas per la Ricerca, Rozzano, Milano)

Costo: € 40.000

Adottato totalmente da: **Gruppo di sostegno FFC di Seregno** (€ 19.000), **Delegazione FFC di Messina** (€ 10.000), **Delegazione FFC di Imola e Romagna con Ma.Gia Srl** (€ 11.000)

FFC#16/2014

Effetto della lattoferrina veicolata da niosomi sulla riduzione dell'infiammazione e dell'infezione in modelli sperimentali in vitro e in studi pre-clinici in animali.

Responsabile: Francesca Berluttì (Dip. Sanità Pubblica e Malattie infettive, Università "La Sapienza", Roma)

Costo: € 43.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Torino** (€ 20.000), **Gruppo di sostegno FFC di Altamura Bari** (€ 8.000), **Trofeo di Golf FFC 2015** (€ 15.000)

FFC#17/2014

I canali TRPA1 come nuovi target molecolari per le terapie anti-infiammatorie dei polmoni FC.

Responsabile: Giulio Cabrini (Laboratorio di Patologia Molecolare, Dip. di Patologia e Diagnostica, Università di Verona)

Costo: € 50.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Tradate Gallarate** (€ 20.000), **Associazione Trentina fibrosi cistica in ricordo di Gabriele Simon** (€ 10.000), **Assist Group srl con il contributo di Vidierre e della Delegazione FFC di Reggio Emilia** (€ 10.000), **Delegazione FFC della Valdadige** (€ 10.000)

FFC#18/2014

Terapie inalanti con Glutatione in fibrosi cistica: quanto sono utili, quanto sicure? Messa a punto di un modello murino di fibrosi cistica per il monitoraggio dell'infiammazione in vivo e la valutazione di trattamenti alternativi.

Responsabile: Alessandro Corti (Dip. di Ricerca Traslazionale NTMS - Lab. Patologia Generale, Università di Pisa)

Costo: € 56.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC della Valpolicella** (€ 30.000), **Delegazione FFC di Latina** (€ 10.000), **Delegazione FFC di Genova** (€ 16.000)

FFC#19/2014

Il Ca2+ mitocondriale media l'attivazione dell'infamasoma esasperando la risposta infiammatoria nell'infezione da *Pseudomonas aeruginosa*.

Responsabile: Paolo Pinton (Dip. di Morfologia, Chirurgia e Medicina Sperimentale, Lab. Trasduzione del Segnale, Università di Ferrara)

Costo: € 62.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Novara** (€ 10.000), **Delegazione FFC di Cosenza 2** (€ 8.000), **Gruppo di Sostegno FFC di Reggello Firenze** (€ 10.000), **"Un fiore per Valeria" Assesmini - Cagliari** (€ 8.000), **Unione Agenti AXA** (€ 10.000), **Gruppo di Sostegno FFC di Isili - Cagliari** (€ 8.000), **Gruppo di Sostegno FFC di Magenta - Milano** (€ 8.000)

FFC#20/2014

Identificazione e caratterizzazione di peptidi umani in grado di neutralizzare LPS batterici: potenziali strumenti per il controllo dell'infiammazione polmonare in fibrosi cistica.

Responsabile: Eliodoro Pizzo (Lab. di Struttura e Funzione delle Proteine-SFP, lab. group-presso il Dip. di Biologia, Università di Napoli "Federico II")

Costo: € 35.000

Adottato totalmente da: **Delegazioni FFC di Palermo e di Vittoria Ragusa Catania 2**

FFC#21/2014

Resolvina D1 per il trattamento dell'infiammazione ed infezione cronica in fibrosi cistica

Responsabile: Antonio Recchiuti (Dip. di Scienza Clinica e Sperimentale e Centro di Eccellenza sull'Invecchiamento-CeSI, Università "G. d'Annunzio", Chieti-Pescara)

Costo: € 65.000

Adottato totalmente da: **Unicredit** (€ 8.000), **Iniziativa di Natale FFC 2014** (€ 28.000), **Gruppo di Sostegno FFC di Isili - Cagliari** (€ 8.000), **Delegazioni FFC di Soverato e San Costantino Calabro** (€ 10.000), **Delegazione FFC di Montescaglioso Matera** (€ 11.000)

FFC#22/2014

Antagonisti della risposta infiammatoria mediata da linfociti Th17 nella Fibrosi Cistica: valutazione preclinica dell'efficacia di Anakinra.

Responsabile: Luigina Romani (Dip. di Medicina Sperimentale, Università di Perugia)

Costo: € 70.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Pesaro** (€ 25.000), **Associazione Trentina fibrosi cistica con Alpini di Verla di Giovo in ricordo di Alvise Sacco** (€ 10.000), **Delegazione FFC di Bologna** (€ 35.000)

FFC#23/2014

Meccanismi e Rilevanza Clinica della Disfunzione Endoteliale nella Fibrosi Cistica.

Responsabile: Mario Romano (Dip. di Scienze Sperimentali e Cliniche, Lab. di Medicina Molecolare Molecolare, Università "G. D'Annunzio", Chieti-Pescara)

Costo: € 60.000

Adottato totalmente da: **Donazione privata** (€ 8.000), **Delegazione FFC di Reggio Calabria** (€ 8.000), **Delegazioni FFC di Rovigo** (€ 10.000), **Delegazione FFC di Taranto a Carmen La Gioia** (€ 8.000), **Delegazione FFC di Imola e Romagna** (€ 18.000)

FFC#24/2014

Ruolo della glucocerebrosidasi GBA2 nell'infiammazione polmonare in fibrosi cistica: dal meccanismo molecolare a nuove strategie terapeutiche.

Responsabile: Sandro Sonnino (Dip. di Biochimica Medica e Medicina Traslazionale, Univ. di Milano)

Costo: € 76.000

Adottato totalmente da: **Cartasi** (€ 10.000), **Numero Solidale Campagna di Natale FFC 2015** (€ 66.000)

FFC#25/2014

PI3Kγ: un nuovo bersaglio terapeutico per riattivare il CFTR e ridurre l'infiammazione e l'osturazione delle vie aeree nella fibrosi cistica.

Responsabile: Emilio Hirsch (Dip. di Biotecnologie Molecolari e Scienze per la Salute, Università di Torino, Centro di Biotecnologia Molecolare)
Costo: € 50.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Montescaglioso - Matera** (€ 10.000), **LIFC con le Associazioni Regionali per Campagna Nazionale FFC 2014** (€ 40.000)

FFC#26/2014

Compromissione del sistema delle IgA secretorie ed immunità mucosa nella fibrosi cistica: ruolo nella patologia polmonare e nella suscettibilità all'infezione batterica, e ruolo delle alterazioni epiteliali correlate al difetto di CFTR nella regolazione della "transcitosi" recettore-mediata delle IgA.

Responsabile: Charles Pilette (Université Catholique de Louvain, Brussels)
Costo: € 48.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Lecce** (€ 15.000), **Delegazione FFC di Alba Cuneo** (€ 20.000), **Delegazione FFC di Sondrio Valchiavenna** (€ 13.000)

FFC#27/2014

Trasmissibilità e significato clinico delle diverse sottospecie di Mycobacterium abscessus in pazienti con fibrosi cistica.

Responsabile: Enrico Tortoli (Unità Patogeni Batterici Emergenti, Divisione di Immunologia, trapianto e Malattie Infettive, Istituto Scientifico S. Raffaele, Milano)
Costo: € 80.000

Adottato totalmente da: riservato **Iniziativa libro Bike Tour Pedaland per la Ricerca**

FFC#28/2014

Studio in vitro del potenziale ruolo profibrotico di Everolimus su diversi tipi di cellule polmonari e ricerca di nuovi biomarker per ottimizzare il trattamento immunosoppressivo con inibitori di mTOR in pazienti con fibrosi cistica sottoposti a trapianto di polmone.

Responsabile: Gianluigi Zaza (Unità di Nefrologia, Dip. di Medicina, Azienda Universitaria Ospedaliera, Verona)
Costo: € 38.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Torino** (€ 20.000), **Delegazione FFC di Lodi** (€ 8.000), **Delegazione FFC di Latina** (€ 10.000)

FFC#29/2014

Proprietà del muco delle vie aeree in fibrosi cistica: loro modifica a causa di cambiamenti nell'attività di CFTR e dopo applicazione di bicarbonato.

Responsabile: Olga Luisa A. Zegarra (U.O.C. Genetica Medica, Istituto "Giannina Gaslini", Genova)
Costo: € 35.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Genova** (€ 15.000), **Delegazione FFC di Cecina Rosignano** (€ 20.000)

FFC#1/2015

Correlazione tra mitocondri e F508del-CFTR nella Fibrosi Cistica.

Responsabile: Anna Atlante (IBBE -Istituto delle Biomembrane e Bioenergetica, CNR, Bari)
Costo: € 45.000

Adottato parzialmente da: **Infront e Play for Change** (€ 20.000), **Gare di golf 2015** (€ 25.000)

FFC#2/2015

La ubiquitina ligasi RNIF5/RMA1 quale nuovo bersaglio terapeutico per il recupero della proteina CFTR mutata per effetto di F508del

Responsabile: Andrea Cavalli (Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie, Università di Bologna)
Costo: € 75.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Verona** (€ 35.000), **La Notte dei sapori** (€ 10.000), **Delegazione FFC di Tradate - Gallarate** (€ 20.000), **Audemars Piguet Italia** (€ 10.000)

FFC# 3/2015

Valutazione e correzione farmacologica di anomalie del bicarbonato (HCO3-) e del trasporto di muco in biopsie intestinali e organoidi di pazienti affetti da FC

Responsabile: Hugo de Jonge (Dipartimento di Gastroenterologia ed Epatoologia, Centro Medico, Erasmus University, Rotterdam)
Costo: € 45.000

Adottato parzialmente da: **Delegazione FFC della Valpolicella** (€ 20.000), **Delegazione FFC di Belluno** (€ 25.000)

FFC#5/2015

La citochina vegetale kinetina e suoi analoghi come potenziali composti terapeutici per la correzione dei difetti di splicing del gene CFTR

Responsabile: Stefano Duga (Università Humanitas, Milano)
Costo: € 60.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Roma** (€ 60.000)

FFC#6/2015

Valutazione degli effetti biologici e terapeutici dei mesoangioblasti progenitori cellulari associati ai vasi sanguigni nella terapia cellulare della Fibrosi Cistica

Responsabile: Graziella Messina (Università degli Studi di Milano, Dipartimento di BioScienze, Milano)
Costo: € 60.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Lucca** (€ 10.000), **Delegazione FFC di Lecce** (€ 10.000), **Gruppo di Sostegno FFC di Tremestieri** (€ 8.000), **Gruppo di Sostegno FFC di Magenta Milano** (€ 10.000), **Delegazione FFC di Fermo** (€ 8.000), **Delegazione FFC di Olbia Tempio** (€ 14.000)

FFC#7/2015

Nuovi tipi di aminoariltazoli per la correzione del difetto di base nella fibrosi cistica: disegno computazionale, sintesi e valutazione biologica

Responsabile: Enrico Millo (CEBR, Centro Eccellenza Ricerca Biomedica, Università di Genova)
Costo: € 40.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Vicenza**

FFC#8/2015

Studiare il ruolo della TG2 nella patogenesi della fibrosi cistica: identificazione di possibili bersagli terapeutici innovativi

Responsabile: Mauro Piacentini (Dipartimento di Biologia - Università di Tor Vergata, Roma)
Costo: € 75.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Cecina e Rosignano** (€ 15.000), **LIFC Toscana Onlus** (€ 15.000), **LIFC con Associazioni Regionali per Campagna Nazionale FFC 2015** (€ 37.000), **Delegazione FFC di Novara** (€ 8.000)

FFC #9/2015

Identificazione di bersagli molecolari per ridurre l'effetto collaterale dei potenziatori sulla stabilità in membrana della F508del-CFTR.

Responsabile: Anna Tamanini (Laboratorio di Patologia Molecolare, UOC Laboratorio Analisi-sede di Borgo Trento, Dipartimento di Patologia e Diagnostica, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona)
Costo: € 50.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Milano "A bordo con Rachele"**

FFC# 10/2015

Sviluppo di un modello di topo con fibrosi cistica, transgenico per IL-8, per il monitoraggio *in vivo* della possibile attività anti-infiammatoria di molecole inibitorie delle metalloproteasi umane e di antibiotici con meccanismo di azione simile a quello della azitromicina.

Responsabile: Maria M. Lleó (Dip. di Patologia e Diagnostica, Sezione di Microbiologia, Univ. di Verona)
Costo: € 7.000

Adottato totalmente da: **Un sogno per vincere**

FFC#11/2015

Nuovi modelli murini di fibrosi cistica con diversi profili genetici

Responsabile: Nicola Ivan Lorè (Divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie Infettive - Istituto Scientifico San Raffaele, Milano)

Costo: € 65.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Villa d'Almè** (€ 15.000), **Delegazione FFC di Reggio Calabria con gli amici del primo Trofeo Neurone** (€ 8.000), **Delegazione FFC di Torino** (€ 20.000), **Delegazione FFC di Tradate Gallarate** (€ 14.000), **Delegazione FFC di Bologna** (€ 8.000)

FFC#12/2015

Attività antinfiammatoria ed antibatterica della lattoferrina somministrata per aerosol nelle infezioni delle vie aeree di modelli murini non FC e FC

Responsabile: Francesca Berluti (Dipartimento di Salute Pubblica e Malattie Infettive, Università "La Sapienza", Roma)

Costo: € 39.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Milano**

FFC#13/2015

Ruolo di sistemi regolati da piccoli RNA non codificanti nell'infezione di *Pseudomonas aeruginosa* delle vie aeree in malati di fibrosi cistica: una nuova frontiera nell'identificazione di bersagli molecolari per antibatterici innovativi

Responsabile: Giovanni Bertoni (Dipartimento di Bioscienze – Univ. degli Studi di Milano, Milano)

Costo: € 35.000

Adottato parzialmente da: **Gruppo di Sostegno FFC di Castelsardo Sassari** (€ 15.000), **Delegazione FFC di Boschi Sant'Anna Minerbe** (€ 20.000)

FFC#14/2015

Indagine del microbioma delle vie aeree nei pazienti con fibrosi cistica che presentano un severo declino della funzione polmonare: un'opportunità per una terapia personalizzata basata sul microbioma

Responsabile: Anna Maria Bevvino (Unità Tecnica per lo Sviluppo e Innovazione del Sistema Agroindustriale, ENEA Agenzia Nazionale Italiana per le Nuove Tecnologie, Energie e Sviluppo Economico Sostenibile, Laboratorio di Microbiologia, Centro Ricerche Casaccia, ROMA)

Costo: € 44.000

Adottato totalmente da: **Gruppo di Sostegno FFC Vallescrivia Alessandria** (€ 8.000), **Delegazione FFC di Latina** (€ 20.000), **Latteria Montello SpA** (€ 16.000)

FFC#15/2015

Impatto del trattamento anti-*Staphylococcus aureus* sul danno polmonare indotto da *Pseudomonas aeruginosa*

Responsabile: Daniela Maria Cirillo (Unità Batteri Patogeni Emergenti, Divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie Infettive - Istituto Scientifico San Raffaele, Milano)

Costo: € 70.000

Adottato totalmente da: **Delegazioni FFC di Palermo, Vittoria Ragusa Siracusa, Catania Mascalucia** (€ 70.000)

FFC#16/2015

Sviluppo di inibitori di metallo-enzimi per contrastare i meccanismi di resistenza ai farmaci di *P. aeruginosa* nei pazienti affetti da fibrosi cistica

Responsabile: Sandra Gemma (Dipartimento di Biotecnologia, Chimica e Farmacia, Università di Siena)

Costo: € 30.000

Adottato parzialmente da: **Antonio Guadagnin** (€ 8.000), **Delegazione FFC di Grosseto Manciano e Famiglia Catalano** (€ 12.000), **Hotel Metropole** (€ 10.000)

FFC#17/2015

Terapia fágica per combattere le infezioni da *Pseudomonas aeruginosa* in pazienti con fibrosi cistica.

Responsabile: Daniela Erica Ghisotti (Dipartimento di Bioscienze, Università di Milano)

Costo: € 12.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Taranto e Gruppi di Sostegno di Massafra e Alberobello**

FFC#18/2015

Antimetaboliti come inibitori del biofilm e della virulenza in *Pseudomonas aeruginosa*: potenziale uso come chemioterapici e strumenti per l'identificazione di bersagli per nuovi antimicrobici

Responsabile: Paolo Landini (Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi, Milano)

Costo: € 13.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Sondrio Valchiavenna**

FFC#19/2015

Formulazioni inalabili di nuove molecole attive contro *Burkholderia cenocepacia*: dalle applicazioni *in vitro* a quelle *in vivo*

Responsabile: Giovanna Riccardi (Laboratorio di Microbiologia Molecolare, Dipartimento di Biologia e Biotecnologie "Lazzaro Spallanzani", Pavia)

Costo: € 60.000

Adottato totalmente da: **Gruppo di Sostegno FFC di Como Dongo** (€ 32.000), **Delegazione FFC di Olbia - Tempio** (€ 15.000), **Delegazione FFC di Reggio Calabria** (€ 13.000)

FFC#21/2015

Utilizzo del gallio come antibatterico nel trattamento delle infezioni polmonari da *Pseudomonas aeruginosa*

Responsabile: Paolo Visca (Dipartimento di Scienze, Laboratorio di Microbiologia Clinica e Virologia, Università di Roma Tre, Roma)

Costo: € 65.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC del Lago di Garda con i Gruppi di Sostegno di Chivasso, dell'Isola Bergamasca e di Arezzo**

FFC#22/2015

Uno studio sistematico di iminozuccheri, derivati del miglustat, come possibili farmaci anti-infiammatori per la malattia polmonare in Fibrosi Cistica.

Responsabile: Maria Cristina Dechechchi (Laboratorio di Patologia Molecolare, Dipartimento di Patologia e Diagnostica, Ospedale Università, Verona)

Costo: € 80.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Genova** (€ 15.000), **Gruppo di Sostegno FFC "Rita" Verona** (€ 8.000), **Delegazione FFC di Pesaro con il Gruppo di Sostegno FFC di Fidenza** (€ 25.000), **Delegazione FFC di Cosenza Sud** (€ 8.000), **Delegazione FFC di Pavia** (€ 10.000), **Delegazione FFC di Catania Paternò** (€ 14.000)

FFC#23/2015

PI3Kγ: un nuovo bersaglio terapeutico per riattivare CFTR e ridurre l'infiammazione e l'ostruzione delle vie aeree nella fibrosi cistica

Responsabile: Emilio Hirsch (Dipartimento di Biotecnologie Molecolari e Scienze Sanitarie, Università di Torino, Centro di Biotecnologie Molecolari)

Costo: € 40.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Montebelluna "La Bottega delle Donne"**

FFC#24/2015

Cellule biliari con difetto di CFTR derivate da cellule staminali umane pluripotenti indotte (iPSC) come modello per studiare il ruolo dell'immunità innata nella malattia epatica della fibrosi cistica

Responsabile: Mario Strazzabosco (Dipartimento di Chirurgia e Medicina Traslazionale/ Università degli Studi Milano-Bicocca/ Laboratorio di Epatoologia)

Costo: € 60.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Imola Romagna** (€ 25.000), **Ma.Gia srl** (€ 10.000), **Delegazioni FFC di Soverato e di San Costantino Calabro** (€ 10.000), **Delegazione FFC di Taranto e Gruppi di Sostegno FFC di Massafra e Alberobello** (€ 15.000)

FFC # 25/2015

Analisi delle linee guida in CF. Dalla qualità metodologica ai contenuti.

Responsabile: Cesare Braggion (Dipartimento di Medicina Pediatrica, Centro Regionale Fibrosi Cistica, Ospedale dei Bambini A. Meyer, Firenze)

Costo: € 22.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Siena** (€ 11.000), **Gruppo di Sostegno FFC di Reggello Firenze** (€ 11.000)

FFC#26/2015

Risultati di un'offerta non organizzata di screening del portatore di fibrosi cistica: monitorizzazione degli effetti su incidenza di fc, screening neonatale e scelte riproduttive delle coppie di portatori

Responsabile: Carlo Castellani (Centro Fibrosi Cistica, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona)

Costo: € 37.000

Adottato parzialmente da: **Gruppo di Sostegno FFC di Lainate Milano** (€ 10.000), **Delegazione FFC di Pomezia Roma con Sara e Andrea** (€ 15.000), **Associazione Trentina Fibrosi Cistica in ricordo di Gianfranco Bertamini** (€ 12.000)

FFC#27/2015

Studio della variabilità biologica intra-individuale del cloro nel sudore

Responsabile: Natalia Cirilli (Centro di Riferimento per Fibrosi Cistica, Ospedale dei Bambini "G. Salesi", Dipartimento Materno Infantile degli Ospedali Riuniti, Ancona)

Costo: € 30.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Alba Cuneo**

FFC#28/2015

Fibrosi cistica e ileo da meconio: studio multicentrico sui fattori di rischio per esiti avversi durante l'infanzia

Responsabile: Rita Padoan (Centro di Supporto per fibrosi cistica - Università di Brescia, Ospedale dei Bambini, Azienda Ospedaliera Spedali Civili, Brescia)

Costo: € 55.000

Adottato totalmente da: **Gruppo di Sostegno FFC di Seregno** (€ 22.700), **Gruppo di Sostegno FFC di Sassari Castelsardo** (€ 15.000), **Delegazione FFC di Cuneo Alba** (€ 17.300)

FFC#29/2015

Testare il recupero di funzione CFTR in pazienti FC con mutazioni nonsenso e difetti di apertura del canale

Responsabile: Claudio Sorio (Dipartimento di Patologia e Diagnostica - Università di Verona)

Costo: € 50.000

Adottato totalmente da: **Donazioni Campagna di Pasqua FFC 2016** (€ 8.000), **Gruppo di Sostegno FFC di Altamura Bari** (€ 8.000), **Delegazione FFC di Manciano Grosseto con Famiglia Catalano** (€ 8.000), **Delegazione FFC di Montescaglioso Matera** (€ 10.000), **Gruppo di Sostegno FFC di Lecco Valsassina** (€ 16.000)

FFC#30/2015

Studio randomizzato multicentrico sull'eradicazione di *Pseudomonas aeruginosa* in pazienti con fibrosi cistica: confronto tra il trattamento eradicante classico e il trattamento classico associato alla terapia antibiotica delle alte vie respiratorie

Responsabile: Giovanni Taccetti (Dipartimento di Medicina Pediatrica, Centro fibrosi cistica - Università di Firenze, Ospedale dei Bambini A. Meyer, Firenze)

Costo: € 79.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Cecina e Rosignano** (€ 35.000), **LIFC Toscana Onlus** (€ 36.000), **Saint-Gobain Abrasivi S.p.a.** (€ 8.000)

FFC#1/2016

Analoghi di trimetilangelicina (TMA) di nuova generazione come modulatori selettivi di CFTR o di infiammazione

Responsabile: Adriana Chilin (Dipartimento di Scienze Farmaceutiche e Farmacologiche, Università di Padova)

Costo: € 80.000

Adottato parzialmente da: **Delegazione FFC di Rovigo** (€ 8.000)

FFC#2/2016

Strategie alternative per il ripristino funzionale di CFTR-F508del: nuovi target per lo sviluppo di farmaci contro la fibrosi cistica

Responsabile: Giorgio Cozza (Istituto Europeo per Ricerca in Fibrosi Cistica-IERFC presso Divisione di Genetica e Biologia Cellulare, Istituto San Raffaele, Milano)

Costo: € 40.000

Adottato totalmente da: **LIFC Toscana Onlus** (€ 40.000)

FFC#3/2016

Strategie terapeutiche in fibrosi cistica basate su MicroRNA in grado di modulare CFTR e infiammazione (MicroRNA-CF)

Responsabile: Roberto Gambari (Dipartimento di Scienze della vita e Biotecnologie, Sezione di Biochimica e Biologia Molecolare, Università di Ferrara)

Costo: € 70.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Lecce** (€ 15.000), **Latteria Montello SpA** (€ 20.000), **Delegazione FFC di Tradate Gallarate** (€ 35.000)

FFC#4/2016

Sviluppo di un peptide derivato dall'enzima PI3Kγ come nuovo e efficace potenziatore del canale mutato CFTR-F508del

Responsabile: Alessandra Ghigo (Dipartimento di Biotecnologia Molecolare e Scienze della Salute, Università di Torino)

Costo: € 50.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Vicenza** (€ 50.000)

FFC#5/2016

Realizzazione di un nuovo test del sudore video-controllato per la misurazione della funzione del canale CFTR: importanza per definire la diagnosi e valutare l'efficacia di nuove terapie

Responsabile: Teresinha Leal (Centro di Lovanio per tossicologia e Farmacologia Applicata-LTAP, Istituto di Ricerca Clinica e Sperimentale-IREC, Università Cattolica di Lovanio)

Costo: € 45.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Imola Romagna** (€ 45.000)

FFC#6/2016

Comprendere il meccanismo d'azione delle vie regolatorie che controllano la proteostasi della CFTR-F508del e sviluppare farmaci in grado di correggere il suo difetto attraverso un'azione sinergica sulle suddette vie

Responsabile: Alberto Luini (Consiglio Nazionale delle Ricerche, Dipartimento Scienze Biomediche, Istituto di Biochimica Proteica, Napoli)

Costo: € 100.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Cosenza Sud** (€ 8.000), **Delegazione FFC di Verbania e VCO** (€ 12.000), **Delegazione FFC di Bologna** (€ 65.000), **Delegazione FFC di Ferrara** (€ 15.000)

FFC#8/2016

Difetti di assemblaggio della proteina CFTR-F508del mutata; meccanismi di recupero dell'espressione della proteina CFTR-F508del mutata; correttori e siti di legame dei correttori

Responsabile: Oscar Moran (Istituto di Biofisica, Consiglio Nazionale delle Ricerche-CNR, Genova)

Costo: € 40.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Palermo** (€ 40.000)

FFC#9/2016

Anakinra, un farmaco promettente nella fibrosi cistica: da antinfiammatorio a correttore di CFTR

Responsabile: Luigina Romani (Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università di Perugia)

Costo: € 60.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Como Dongo** (€ 60.000)

FFC#10/2016

Modulazione della proteinchinasi CK2 per regolare le molecole chaperoniche che controllano il destino della proteina CFTR-F508del

Responsabile: Mauro Salvi (Dipartimento di Scienze Biomediche, Università di Padova)

Costo: € 30.000

Adottato totalmente da: **Gruppo di Sostegno FFC di Derego** (€ 30.000)

FFC#11/2016

Potenziale terapeutico della miriocina quale modulatore del fenotipo patologico in fibrosi cistica

Responsabile: Paola Signorelli (Dipartimento di Scienze della Salute, Ospedale San Paolo, Università di Milano)

Costo: € 70.000
Non ancora adottato

FFC#12/2016

Proprietà del muco delle vie aeree in fibrosi cistica: modifiche dovute a cambiamenti nell'attività di CFTR e dopo l'applicazione di bicarbonato

Responsabile: Olga Luisa A. Zegarra (U.O.C. Genetica Medica, Istituto Giannina Gaslini, Genova)

Costo: € 45.000

Adottato parzialmente da: **Delegazione FFC di Genova** (€ 15.000), **Delegazione FFC di Pomezia Roma** (€ 15.000), **Delegazione FFC di Massafra** (€ 15.000)

FFC#13/2016

Messa a punto di un modello single-cell e di un modello animale per lo studio della patogenesi dell'infezione da membri del Mycobacterium abscessus complex in pazienti con fibrosi cistica

Responsabile: Enrico Tortoli (Unità Batteri Patogeni Emergenti, Divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie Infettive, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano)

Costo: € 50.000

Adottato parzialmente da: **Gruppo di Sostegno FFC di Ascoli Piceno** (€ 15.000)

FFC#14/2016

Ruolo di sistemi regolati da piccoli RNA non codificanti nell'infezione da *Pseudomonas aeruginosa* delle vie aeree di malati FC: una nuova frontiera nell'identificazione di bersagli molecolari per antibatterici innovativi

Responsabile: Giovanni Bertoni (Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Milano)

Costo: € 25.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Reggio Calabria** (€ 12.000), **Gruppo di Sostegno FFC di Vigevano** (€ 13.000)

FFC#15/2016

Geni Modificatori legati alla malattia polmonare da *Pseudomonas aeruginosa* in fibrosi cistica

Responsabile: Alessandra Bragonzi (Unità Infezioni e Fibrosi cistica, Divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie Infettive, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano)

Costo: € 45.000

Adottato parzialmente da: **Delegazione FFC della Valpolicella** (€ 25.000), **Delegazione FFC di Manciano Grosseto e Famiglia Catalano** (€ 10.000)

FFC#16/2016

Terapia fagica per combattere le infezioni da *Pseudomonas aeruginosa* in pazienti con fibrosi cistica

Responsabile: Daniela Erica Ghisotti (Dipartimento di Bioscienze, Università di Milano)

Costo: € 15.000

Adottato totalmente da: **LIFC Toscana Onlus** (€ 15.000)

FFC#17/2016

Sviluppo di particelle inhalabili per la somministrazione ottimale di una potente molecola antimicrobica nelle infezioni polmonari dovute a *Pseudomonas aeruginosa*

Responsabile: Alessandro Pini (Dipartimento di Biotecnologia Medica, Università di Siena)

Costo: € 55.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Siena** (€ 20.000), **Delegazione FFC di Castelsardo** (€ 27.000), **Gruppo di Sostegno FFC di Siniscola** (€ 8.000)

FFC#18/2016

Valutazione preclinica dell'efficacia di composti che competono con i glicosaminoglicani polmonari nel ridurre l'infiammazione e il danno al tessuto causati dall'infezione cronica da *Pseudomonas aeruginosa*

Responsabile: Cristina Cigana (Unità Infezioni e Fibrosi Cistica, Divisione Immunologia, Trapianto e Malattie infettive, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano)

Costo: € 60.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Palermo** (€ 12.000), **Delegazione FFC di Vittoria, Ragusa e Siracusa**, (€ 12.000), **Delegazione FFC di Catania Mascalucia** (€ 12.000), **Delegazione FFC di Messina** (€ 12.000), **Gruppo di Sostegno FFC di Tremestieri** (€ 12.000)

FFC#19/2016

Ruoli e meccanismi della Resolvina D1 per il trattamento dell'infiammazione, dell'infezione cronica e del danno polmonare in fibrosi cistica

Responsabile: Antonio Recchietti (Dipartimento di Scienze Mediche, Orali e Biotecnologie - Centro di Eccellenza delle Scienze dell'Invecchiamento, Università G. D'Annunzio, Chieti-Pescara)

Costo: € 100.000

Non ancora adottato

FFC#20/2016

Studio multicentrico italiano dei deficit di tolleranza glicemica in fibrosi cistica

Responsabile: Alberto Battezzati (Centro Internazionale per Inquadramento dello Stato Nutrizionale-ICANS, DeFENS, Università degli Studi di Milano)

Costo: € 80.000

Adottato parzialmente da: **Delegazione FFC di Latina** (€ 20.000)

FFC#21/2016

La realtà virtuale per ridurre il dolore e l'ansia del prelievo venoso nei bambini con fibrosi cistica

Responsabile: Sofia Bisogni (Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli Studi di Firenze)

Costo: € 15.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Sondrio Valchiavenna** (€ 15.000)

FFC#22/2016

Serbatoi ambientali e umani di *Pseudomonas aeruginosa* e altre specie batteriche in grado di colonizzare le basse vie respiratorie di pazienti con fibrosi cistica

Responsabile: Caterina Signoretto (Dipartimento di Diagnosi e Salute Pubblica, Sezione di Microbiologia, Università di Verona)

Costo: € 25.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Treviso Montebelluna** (€ 25.000)

FFC#16/2013

Fosfodiesterasi tipo-4 (PDE4) e recettori β2 adrenergici come potenziali bersagli farmacologici per ridurre l'infiltrazione neutrofilica e il danno polmonare nella fibrosi cistica. Studi preclinici e identificazione di biomarcatori di efficacia

Responsabile: Virgilio Evangelista (Dipartimento di Scienze Sperimentali e Cliniche, Laboratorio di Medicina Molecolare, Università di Chieti)

Costo: € 90.000

Adottato totalmente da: **LIFC con Associazioni Regionali per la Campagna Nazionale FFC 2013** (€ 65.000), **Delegazione FFC di Lecce** (€ 10.000), **LIFC Associazione Emiliana** (€ 15.000)

Questo progetto è stato interrotto nel marzo 2015 a causa della chiusura del Consorzio Mario Negri Sud (Chieti). Viene riattivato nel 2016, con la durata di un anno (1 settembre 2016 – 31 agosto 2017), presso il Dipartimento di Scienze Sperimentali e Cliniche dell'Università di Chieti, Laboratorio di Medicina Molecolare.

(**) The FFC network researchers are required to enter in the acknowledgment of publications derived from projects funded by FFC the names of supporters who have adopted the specific project, as indicated in the above list. The CF research funding is largely due to the generosity and volunteer activity of many FFC supporters and fundraisers.



Fondazione Ricerca Fibrosi Cistica - Onlus

italian cystic fibrosis research foundation

Presso Ospedale Maggiore B.go Trento
P.le A. Stefani, 1 - 37126 Verona

Presidenza e Segreteria

Tel. 045 8123438 - fax 045 8123568
e-mail: fondazione.ricercafc@ospedaleuniverona.it
Codice fiscale 93100600233

Consiglio di Amministrazione

Presidente: Vittoriano Faganelli
Vice Presidente: Matteo Marzotto
Consiglieri: Sandro Caffi
Francesco Cobello
Paolo Del Debbio
Francesco Ernani
Giuseppe Ferrari
Gianni Mastella
Giulio Pedrollo
Michele Romano
Donatella Treu
Luciano Vettore
Patrizia Volpato

Direzione Scientifica

– Direttore Scientifico: Gianni Mastella
Tel. 045 8123567
e-mail: gianni.mastella@ospedaleuniverona.it
– Vicedirettore Scientifico: Graziella Borgo
Tel. 045 8127027 / 346 5126013
e-mail: borgograziella@gmail.com

Comitato di Consulenza Scientifica

Presidente: Giorgio Berton
Consulenti: Paolo Bernardi
Paola Bruni
Roberto Buzzetti
Gian Maria Rossolini

Per donazioni:

- SWIFT-BIC code (per pagamenti dall'estero)
UNCRITM1N58
- Bonifico Unicredit Banca:
IBAN IT 47 A 02008 11718 000102065518
- Bonifico Banco Popolare di Verona:
IBAN IT 92 H 05034 11708 000000048829
- On-line sul sito: www.fibrosicisticaricerca.it
- 5 x mille dell'IRPEF: Cod. Fisc. 93100600233

Redazione:

Gianni Mastella, Graziella Borgo,
Tecla Zarantonello, Federica Lavarini

Grafica ed impaginazione:

Ada Frapporti

Stampa:

Tipolitografia Artigiana snc
San Giovanni Lupatoto (VR)
Stampato il 18 novembre 2016



www.fibrosicisticaricerca.it

Certificazione IID 2008/10
Aderiamo agli standard
della Carta della Donazione

Nella denuncia dei redditi per i privati, le donazioni a FFC sono deducibili fino al 10% del reddito complessivo e comunque non oltre 70.000 euro/anno (art. 14 legge n. 80/2005). Per le aziende la deducibilità è totale e senza limiti.



**Fondazione Ricerca
Fibrosi Cistica - Onlus**
italian cystic fibrosis research foundation

In collaborazione con



Azienda Ospedaliera
Universitaria Integrata
Verona

