



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



Progetto FFC#8/2020

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

Generazione di colture di cellule staminali delle vie aeree condizionalmente riprogrammate dall'epitelio nasale di pazienti con fibrosi cistica: valutazione della risposta a farmaci modulatori del CFTR e correlazione con il profilo genetico (*theratyping*) e ripristino della funzione del CFTR mediante approcci di modificazione genica



Chi ha condotto la ricerca:

Responsabile: **Adriana Eramo**
Istituto Superiore di Sanità, Dip. di
Oncologia e Medicina Molecolare

Partner: **Marco Lucarelli**
Università La Sapienza,
Dip. di Medicina Sperimentale



Ricercatori coinvolti: 18



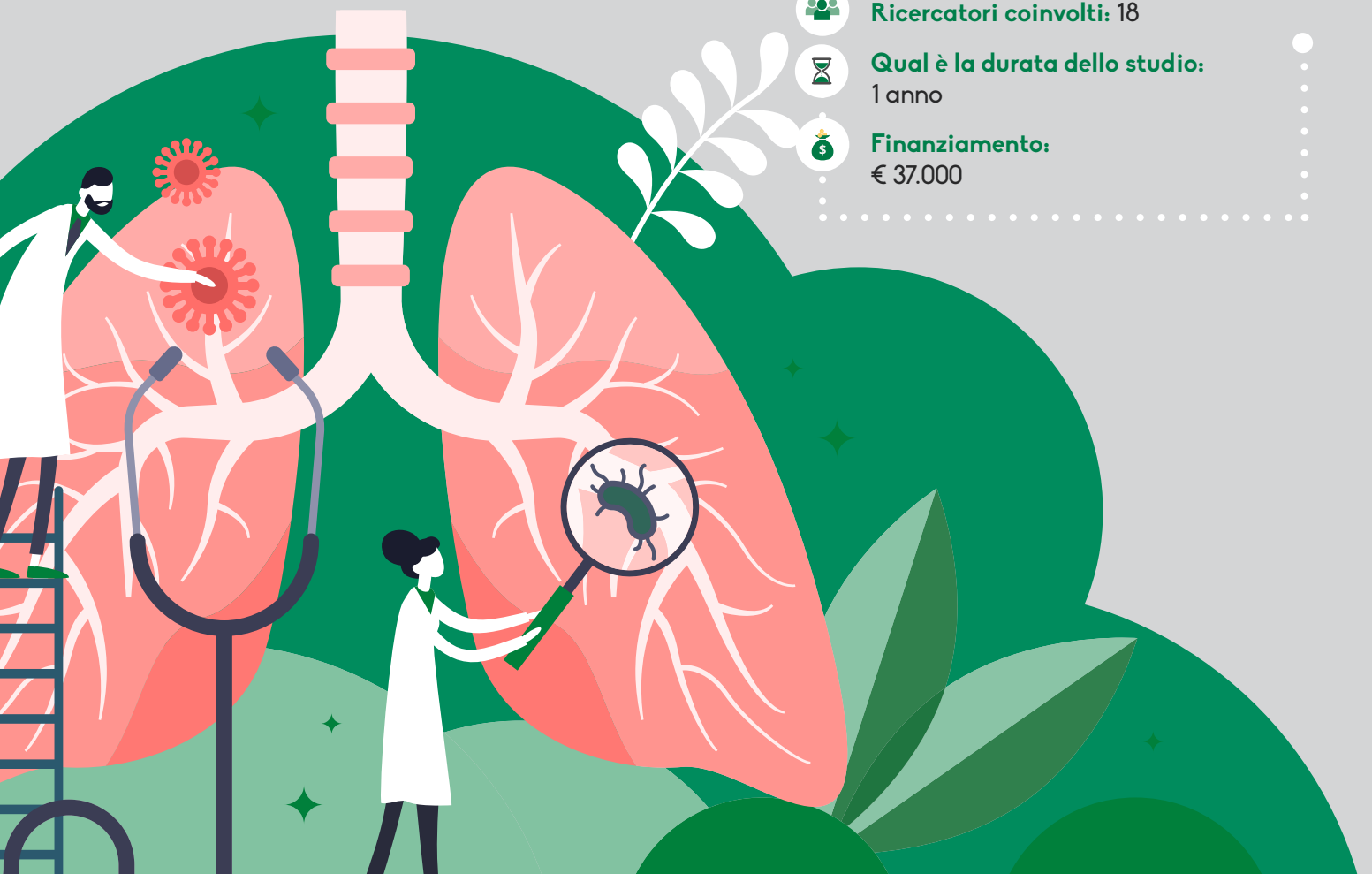
Qual è la durata dello studio:

1 anno



Finanziamento:

€ 37.000





Perché è importante

I farmaci modulatori attualmente disponibili sono stati approvati solo per alcune delle mutazioni che causano la fibrosi cistica (FC), ma potrebbero essere efficaci anche per altre. È di estrema importanza avere a disposizione strumenti che permettano di valutare l'efficacia di farmaci (già approvati, in fase di test o di sviluppo clinico) su cellule di pazienti con mutazioni più o meno comuni.



Che cosa hanno usato i ricercatori

Sono state usate cellule nasali ottenute tramite *brushing*, ossia spazzolamento della mucosa interna nasale di pazienti con fibrosi cistica. Le cellule avevano diversi genotipi di mutazioni su CFTR: omozigoti per F508del, eterozigoti con F508del su un allele e altre mutazioni sull'altro allele, mutazioni rare senza F508del. Come controllo, si sono usate cellule di portatori sani di FC o di individui privi di mutazioni su CFTR.

I ricercatori hanno realizzato 18 colture cellulari *ex vivo*, che si aggiungono alle 24 ottenute dal precedente progetto FFC#12/2018.



Che cosa hanno fatto i ricercatori

A partire da queste cellule si sono ottenute colture di tessuto respiratorio in Interfaccia Aria-Liquido (colture ALI) e organoidi nasali (organi epiteliali in miniatura). I modelli così realizzati sono stati usati per studi *ex vivo* volti a determinare la risposta dei diversi genotipi ai farmaci modulatori Kalydeco, Orkambi, Symkevi, Kaftrio.

Questa strategia di studio è chiamata *theratyping* (o teratipizzazione), e consiste nell'abbinare una possibile terapia (*therapy*) a specifici tipi di mutazione (*type*).



Che cosa hanno ottenuto

Dagli studi è emerso che tutti i modelli mostrano una generale bassissima risposta a Kalydeco, Orkambi e Symkevi. In tre genotipi con la mutazione F508del associata ad altre mutazioni (in particolare quelle che prevedono lunghe inserzioni nucleotidiche) Kaftrio ha mostrato una marcata attività. È stata anche valutata la risposta a Kaftrio di altre varianti genetiche rare, in assenza della mutazione F508del: i risultati più promettenti sono stati ottenuti per la variante L1077P del gene CFTR.



Che cosa succederà ora

I modelli cellulari usati nel progetto si sono mostrati particolarmente preziosi per il *theratyping ex vivo* e potrebbero contribuire a miglioramenti terapeutici, con indubbi benefici anche per i pazienti con varianti rare di CFTR, tuttora privi di terapie mirate approvate.

Per saperne di più



Obiettivi

Personalizzare le terapie con modulatori di CFTR, specialmente in soggetti FC con mutazioni "orfane", tramite test *ex vivo* su colture di cellule epiteliali nasali e loro organoidi.

Il progetto è l'estensione di un precedente progetto (FFC#12/2018), dedicato a studiare l'efficacia di farmaci modulatori di CFTR tramite test *ex vivo* su cellule di epitelio nasale e su loro organoidi (organi epiteliali in miniatura), sviluppati in coltura partendo dalle cellule staminali. L'intento è quello di studiare epiteli di soggetti FC con mutazioni rare (saranno valutati 31 genotipi), che non hanno indicazione al trattamento con modulatori di CFTR in uso, quindi sono attualmente prive di cura ("orfane" di cura). L'obiettivo è sviluppare terapie del difetto di base personalizzate in base al tipo di mutazione presente (*theratyping*). Verranno testati e comparati tra loro nell'effetto Orkambi, Symkevi e Kaftrio. Sarà valutata anche una terapia sperimentale volta ad aumentare l'espressione del CFTR e a indurre uno specifico tipo cellulare con un aumentato trasporto di ione cloruro, chiamato ionocita.



Risultati

Generazione di colture *ex vivo* derivanti da diversi genotipi e test *in vitro* dei modulatori disponibili sul mercato: promettenti risultati per il *theratyping* applicato anche a mutazioni rare.

Nel corso del progetto, i ricercatori hanno realizzato 18 colture cellulari *ex vivo*, che sono state opportunamente validate e conservate a lungo termine in condizioni controllate. Queste colture si aggiungono alle 24 ottenute nel corso del precedente progetto FFC#12/2018 e sono state ottenute a partire da cellule staminali epiteliali nasali riprogrammate isolate da pazienti con fibrosi cistica (FC) con diversi genotipi (omozigoti F508del; eterozigoti composti F508del/altra mutazione; genotipi rari privi della mutazione F508del) o di soggetti eterozigoti (portatori sani) e individui sani senza alcuna mutazione nel gene CFTR. A partire da queste cellule staminali, i ricercatori hanno generato e validato modelli di fibrosi cistica che riproducono il tessuto patologico *in vitro* (*air liquid interface* o ALI-cultures e organoidi nasali). Su questi modelli cellulari, il gruppo di ricerca ha così messo a punto diversi test per la caratterizzazione biochimica e funzionale di CFTR dopo trattamento farmacologico per determinare la risposta delle diverse varianti genetiche (*theratyping*) a modulatori già approvati come Kalydeco, Orkambi, Symkevi e Kaftrio. Dagli studi è emerso che i modelli e i test messi a punto dai ricercatori mostrano una generale bassissima attività di Kalydeco, Orkambi e Symkevi, e una marcata risposta a Kaftrio in tre genotipi con la mutazione F508del associata ad altre mutazioni, in particolare quelle che determinano lunghe inserzioni nucleotidiche.

È stata anche valutata la risposta a Kaftrio di altre varianti genetiche rare di malattia (prive della mutazione F508del): i risultati più promettenti sono stati ottenuti per la variante L1077P del gene CFTR.

Questi modelli cellulari, basati sulle cellule condizionalmente riprogrammate, si sono mostrati particolarmente preziosi per il *theratyping ex vivo* e potrebbero contribuire a miglioramenti terapeutici, con indubbi benefici anche per i pazienti con varianti rare di CFTR, tuttora privi di terapie mirate approvate.

Rendiconto economico



Progetto FFC#8/2020

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

Generazione di colture di cellule staminali delle vie aeree condizionalmente riprogrammate dall'epitelio nasale di pazienti con fibrosi cistica: valutazione della risposta a farmaci modulatori del CFTR e correlazione con il profilo genetico (*theratyping*) e ripristino della funzione del CFTR mediante approcci di modificazione genica



Periodo:
01/09/2020 – 31/08/2021



Responsabile:
Adriana Eramo
Istituto Superiore di Sanità, Dip. di Oncologia e Medicina Molecolare



Partner:
Marco Lucarelli
Università La Sapienza, Dip. di Medicina Sperimentale



Grant assegnato: **€37.000**



Usato per:

- Materiale di consumo **€26.195**
- Borse di studio **€10.800**
- €36.995**



Saldo (usato per altri progetti) **€5**