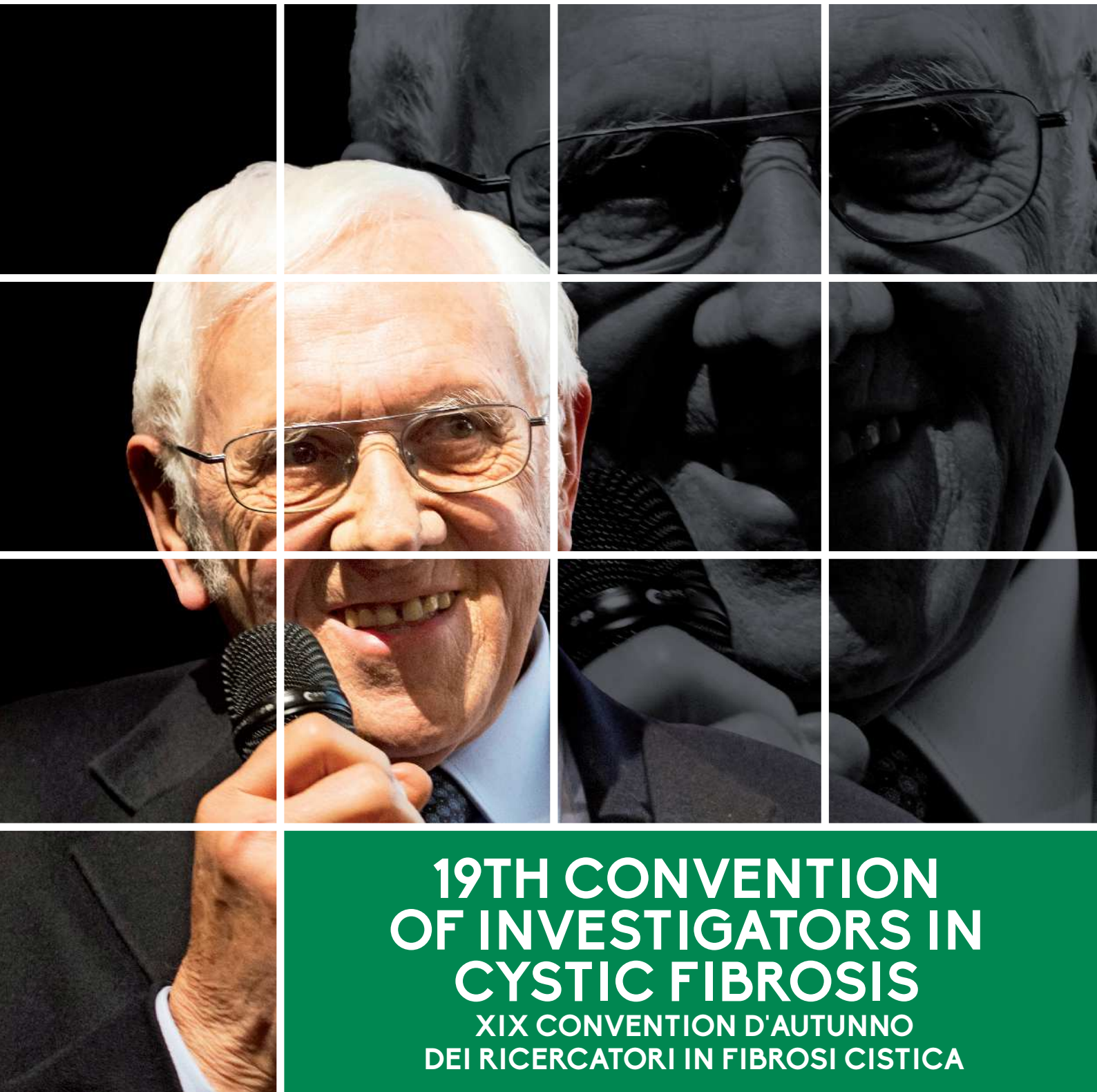




*Fondazione per la Ricerca  
sulla Fibrosi Cistica - Onlus  
italian cystic fibrosis research foundation*



**19TH CONVENTION  
OF INVESTIGATORS IN  
CYSTIC FIBROSIS**  
XIX CONVENTION D'AUTUNNO  
DEI RICERCATORI IN FIBROSI CISTICA

**Verona, 25/26 November 2021**  
Centro Congressi Camera di Commercio

On the cover / In copertina

**Prof. Gianni Mastella**

*"I strongly believed in the idea of facing cystic fibrosis in a more determined and effective way. It was an important choice that raised a ferment of ideas and inspired people and encouraged different professionals and scientists to engage in research. I am really proud to have given rise to this project. In a time when science is changing the future of people with cystic fibrosis, our commitment to supporting CF research is more strongly than ever. Our ultimate aim is to find a cure for everybody."*

Ho creduto molto e mi sono appassionato all'idea di affrontare la malattia in termini più decisi ed efficaci. È stata una scelta importante che ha acceso un fervore di idee, stimolato persone, spinto diversi professionisti e scienziati a impegnarsi nella ricerca. Sono orgoglioso di avere dato il via a questo progetto. In un momento in cui la ricerca sta davvero cambiando il volto della fibrosi cistica, il nostro impegno per sostenerla è più determinato che mai. Una cura per tutti è il traguardo a cui dobbiamo arrivare.

Gianni Mastella

Biography / Biografia

*Prof. Gianni Mastella, graduated as a medical doctor in 1955 and as a pediatrician in 1958, established in Verona the first Italian cystic fibrosis (CF) center, of which he was the director, that became with time the largest Italian CF center and the landmark in diagnosis, care and therapeutic strategies of the disease in Italy. Prof. Mastella pioneered an interdisciplinary patient oriented care assistance for persons with CF that was absent since there in the county and that soon became a model to follow. In these years he also continued his career as a doctor in parallel to a pivotal role as a scientist and researcher. When retired from CF Verona Center, Mastella focused his vision on research and in 1997 established the Italian Cystic Fibrosis Research Foundation (FFC Ricerca), a national agency where researchers submit projects that are financed after following a process of an international peer-review. The scientific results achieved by the FFC Ricerca projects are shared with the scientific community and the volunteers who strongly support the organization. Gianni Mastella worked as Scientific Director of FFC Ricerca up to his death at 91 years at the beginning of 2021.*

Laureato in medicina all'Università di Padova nel 1955, una specializzazione in pediatria e particolari competenze nel campo delle malattie polmonari e gastrointestinali, il professor Gianni Mastella nel 1967 costruisce e dirige a Verona il primo Centro di cura per la fibrosi cistica in Italia. Nel tempo, il centro diventerà punto di riferimento, nazionale e internazionale, per la diagnosi e il trattamento della malattia. Accanto alla sua carriera da medico, Gianni Mastella ha rivestito un ruolo fondamentale nel campo della ricerca della fibrosi cistica fino a fondare, assieme a Vittoriano Faganelli, Matteo Marzotto e Michele Romano, la Fondazione per la Ricerca sulla Fibrosi Cistica (FFC Ricerca). FFC Ricerca ogni anno seleziona e promuove progetti di ricerca d'eccellenza che mirano a sconfiggere la fibrosi cistica. Gianni Mastella ha lavorato come Direttore Scientifico di FFC Ricerca fino alla sua morte all'inizio del 2021.

In collaboration with / In collaborazione con



Azienda Ospedaliera  
Universitaria Integrata  
Verona



With the patronage of / Con il patrocinio di



CAMERA DI COMMERCIO  
INDUSTRIA ARTIGIANATO  
AGRICOLTURA VERONA

With the contribution of / Con il contributo di



Editorial staff / Redazione

Luisa Alessio, Stefania Chignola, Federica Lavarini, Ermanno Rizzi

Graphics and layout / Grafica e impaginazione

Porpora ADV - Michela Chesini

Ada Frapporti

Cover image / Foto di copertina

Alessio Tamborini

Print / Stampa

November 2021, Gruppo Sinergia Srl, Verona

# 19<sup>TH</sup> CONVENTION OF FFC INVESTIGATORS IN CYSTIC FIBROSIS

XIX Convention d'Autunno dei Ricercatori in Fibrosi Cistica

Webinar

Verona, 25-26 November 2021  
Centro Congressi Camera di Commercio

*Work in progress of projects funded by FFC Ricerca (2019-2021)*

Presentazione dello stato di avanzamento dei progetti  
finanziati da FFC Ricerca (2019-2021)



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

## GENERAL INDEX

<b>Webinar Program at a glance</b> .....	3
<b>Webinar Full Program</b> .....	4
<b>Full Index of Abstracts</b> .....	7
<b>Abstracts of oral presentations</b> .....	11
<b>Abstracts of 2021 new FFC Ricerca Projects</b> .....	46

## APPENDICES

1. Archive of Publications & Congress Abstracts from FFC Ricerca Projects (2011–2021) .....	57
2. Institutes and Laboratories involved in FFC Ricerca Projects .....	87
3. International Reviewers of FFC Ricerca Projects .....	91
4. FFC Ricerca Projects (2019 - 2021) adopted by Supporters .....	93

## Webinar Program at a glance

### Thursday, 25 November 2021

- 10:00-10:35 *Introduction and greetings*
- 10:35 -12:10 **Session 1**  
**MODULATION OF CFTR FUNCTION**
- 12:10-13:30 **Session 2**  
**RECOVERY OF CFTR FUNCTION BY POTENTIATORS/CORRECTORS: EX VIVO STUDIES**
- 13:30-14:30 *Lunch and technical break*
- 14:30-16:55 **Session 3**  
**NEW STRATEGIES TO RECOVER MUTATED CFTR FUNCTION**
- 16:55-17:15 *Coffee and technical break*
- 17:15-17:55 **Special lecture**
- 19:45 *Welcome dinner*

### Friday, 26 November 2021

- 08:30- 11:25 **Session 4**  
**INFECTIONS: EMERGING PATHOGENS AND NEW THERAPEUTIC STRATEGIES**
- 11:25-11:45 *Coffee and technical break*
- 11:45-13:35 **Session 5**  
**CLINICAL RESEARCH**
- 13:35-14:35 *Lunch and technical break*
- 14:35-15:55 **Session 6**  
**INFECTIONS: P. AERUGINOSA**
- 15:55-17:15 **Session 7**  
**INFLAMMATION**
- 17:15-17:20 *Closing remarks*

# WEBINAR FULL PROGRAM

(oral presentation)

***Thursday, 25 November 2021***

10:00-10:35 Introduction & Greetings

## Session 1

### MODULATION OF CFTR FUNCTION

Chair: **Armirotti A**

1. **Galiotta L**  
Identification of deubiquitinases and ubiquitin ligases that affect mutant CFTR rescue (FFC#6/2019, concluded) (15')
2. **Netti P, Di Bernardo D**  
Investigating epithelial-stromal crosstalk in full thickness cystic fibrosis model on chip for evaluating novel therapeutic strategies (FFC#14/2019, concluded) (15')
3. **Salvi M**  
Functional role of post-translational modifications in F508del-CFTR correction (FFC#7/2020, concluded) (15')
4. **Bertozi F**  
Characterization of CFTR modulators mechanism of action via Photo-Affinity Labeling (PAL) approach (FFC#4/2020, ongoing) (15')
5. **Bragonzi A, Rossi G**  
Bridging airway mucus-microbiota-host genotype to define novel cystic fibrosis models (FFC#2/2019, concluded) (15')

11:50-12:10 Discussion

12:10-13:30

## Session 2

### RECOVERY OF CFTR FUNCTION BY POTENTIATORS/CORRECTORS: EX VIVO STUDIES

Chair: **Barraja P, Volpi S**

6. **Pedemonte N, Cavalli A**  
*Therotyping* orphan mutations in Italian cystic fibrosis patients: efficacy of CFTR modulators and RNF5 inhibitors (FFC#9/2019, concluded) (15')
7. **Eramo A, Lucarelli M**  
Establishment of conditionally reprogrammed airway epithelial stem cell cultures from nasal epithelia of cystic fibrosis patients: exploring response to CFTR-modulating drugs for correlation with genetic profile (*therotyping*) and restoring CFTR function through gene editing approaches (FFC#8/2020, concluded) (15')
8. **Frulloni L, de Jonge H, Lucidi V**  
Intestinal organoids for assessment and pharmacological correction of abnormalities in fluid transport and anion currents in patients affected by pancreatitis (FFC#5/2020, concluded) (15')
9. **Melotti P, de Jonge H, Castaldo G**  
*Therotyping* of rare CFTR genotypes for treatment with CFTR modulators (FFC#9/2020, ongoing) (15')

13:10-13:30 Discussion

13:30-14:30 Lunch (*brown-bag*)

14:30-16:55

## Session 3

### NEW STRATEGIES TO RECOVER MUTATED CFTR FUNCTION

Chair: **Colombo C, Bandiera T**

10. **Barraja P, Venturini A**  
Small nitrogen heterocycles as correctors of the mutant CFTR protein in cystic fibrosis (FFC#3/2020, ongoing) (15')
11. **Cereseto A, Arosio D**  
Harnessing CRISPR/Cas technology to revert F508del-CFTR defect (FFC#3/2019, concluded + extension 2021) (15')
12. **Lentini L, Pibri I**  
Validation of the distribution and activity of new optimized leads in mouse model and other CF model systems (FFC#6/2020, ongoing) (15')

15:15-15:35 Discussion

13. **Amato F**  
Peptide-nucleic acids as potential CFTR amplifier molecules for cystic fibrosis treatment (FFC#1/2020, ongoing) (15')
14. **Mangoni M**  
Antimicrobial peptides from amphibian skin for treatment of lung pathology in cystic fibrosis: advanced *in vitro* and *in vivo* functional characterization (FFC#8/2019, concluded) (15')
15. **Aureli M, Tamanini A**  
Lipid-based therapeutic strategies to optimize the effectiveness of innovative drugs to rescue F508del-CFTR (FFC#2/2020, ongoing) (15')
16. **Cozza G, Esposito S, Raia V**  
Restoring defective proteostasis in cystic fibrosis: novel strategies for F508del-CFTR repair (FFC#4/2019, concluded) (15')
- 16:35-16:55 Discussion  
16:55-17:15 *Coffee break*

17:15-17:55  
**Carla Colombo – Special Lecture**  
*From the bench to the bedside: focus on the effects of the new modulator/corrector therapies in patients' real life (40')*

- 17:55-18:05 Discussion  
19:45 *Welcome dinner*

## **Friday, 26 November 2021**

8:30-11:25

### **Session 4**

#### **INFECTIONS: EMERGING PATHOGENS AND NEW THERAPEUTIC STRATEGIES**

*Chair: Bragonzi A, Mencarini J*

#### ***Nontuberculous Mycobacteria (NTM) Infections***

17. **Fraziano M**  
Preclinical study of a combined host- and pathogen directed approach based on bioactive liposomes and bacteriophages against *Mycobacterium abscessus* infection (FFC#21/2019, concluded) (15')
18. **Lorè NI**  
Unravelling novel biomarkers to define the progression of *Mycobacterium abscessus* lung disease in cystic fibrosis (FFC#23/2020, ongoing) (15')
19. **Pasca MR, Makarov V, Ramón-García S, Tortoli E**  
New weapons against *Mycobacterium abscessus* and other nontuberculous mycobacteria (FFC#14/2020, pilot project concluded, FFC#18/2021 extension) (15')
20. **Fattorini L, Borroni E**  
New drug combinations against nontuberculous mycobacteria infections in cystic fibrosis (FFC#12/2020, pilot project concluded, FFC#17/2021, extension) (15')

9:30-9:50 Discussion

9:50-11:25

#### ***New antimicrobial strategies***

21. **Lleo' M**  
Investigating *Achromobacter xylosoxidans* pathogenicity and clinical role in CF lung infection (FFC#18/2019, concluded) (15')
22. **Visca P, Sorrentino R**  
Gallium as an antibacterial agent in cystic fibrosis: animal studies for the delivery of inhalable formulations to the clinic (FFC#19/2019, concluded) (15')
23. **Cellini B**  
Exploring the dual targeting of host and microbial sphingosine-1-phosphate lyase as antimicrobial strategy in cystic fibrosis (FFC#16/2020, concluded, FFC#19/2021, extension) (15')
24. **Guaragna A, De Gregorio E**  
Can old and new sweet glycomimetics act as antibacterial and antibiofilm agents in the treatment of CF lung disease infections? (FFC#13/2020, ongoing) (15')
25. **Piacentini M, Raia V**  
Targeting the STING/Transglutaminase 2-regulated Interferon response as a novel host- direct approach to fight bacterial infections in cystic fibrosis (FFC#15/2020, ongoing) (15')

11:05-11:25 Discussion

11:25-11:45 *Coffee break*

11:45-13:35

## Session 5

### CLINICAL RESEARCH

Chair: Cipolli M, Borgo G

26. **Battezzati A, Colombo C, Lucidi V, Lucanto MC, Mari A**  
Early derangements of glucose tolerance in cystic fibrosis: effect of CFTR modulators (FFC#24/2019, concluded) (15')
27. **Morana G**  
Standardized Ventilation Inflammation Perfusion and Structure (VIPS) MRI platform for monitoring cystic fibrosis lung disease (FFC#26/2019, concluded) (15')
28. **Scaravilli V**  
Right ventricle dysfunction in cystic fibrosis patients undergoing lung transplant (FFC#27/2019, ongoing) (15')
29. **Aliverti A**  
Use of multivolume MRI to assess response to CFTR modulators (FFC#21/2020, concluded) (15')
30. **Cirilli N, Tiano L, Gesuita R**  
Role of viable but non culturable (VBNC) bacterial forms in CF patients in a clinical setting: a translational research (FFC#22/2020, ongoing) (15')
31. **Terlizzi V, Tosco A, Claut LE**  
Cystic fibrosis screen positive inconclusive diagnosis (CFSPID): an Italian multicenter survey evaluating prevalence, clinical data, management and outcome (FFC#24/2020, ongoing) (15')

13:15- 13:35 Discussion

13:35-14:35 Lunch (brown-bag)

14:35-15:55

## Session 6

### INFECTIONS: *P. AERUGINOSA*

Chair: Pasca MR, Delfino E

32. **Ascenzioni F, Imperi F, Botta B**  
Pharmacological inhibition of colistin resistance in gram-negative cystic fibrosis pathogens (FFC#15/2019, concluded) (15')
33. **Biavasco F, Citterio B**  
Fighting *Pseudomonas aeruginosa* persists in cystic fibrosis pulmonary infections: improved detection and therapeutic strategies (FFC#16/2019, concluded) (15')
34. **Bertoni G**  
Targeting small RNA-mediated regulation of virulence and antibiotic resistance to develop non-traditional therapeutic options against *Pseudomonas aeruginosa* (FFC#10/2020, ongoing) (15')
35. **Brun P**  
Disrupting *Pseudomonas aeruginosa* Quorum Sensing signalling in cystic fibrosis patients as a new frontier for antibacterial therapy (FFC#11/2020, concluded) (15')

15:35-15:55 Discussion

15:55-17:15

## Session 7

### INFLAMMATION

Chair: Cabrini G, Minicucci L

36. **Recchiuti A, Aloisi A**  
Nanotechnology-based Resolvin D1 as proresolving therapy in cystic fibrosis: preclinical studies for the delivery of innovative formulations to the clinic (FFC#19/2020, pilot project concluded, FFC#20/2021 extension)
37. **Giovagnoli S**  
Oral and pulmonary delivery platforms for anakinra repurposing in cystic fibrosis (FFC#17/2020, ongoing)
38. **Summa V, Altucci L**  
Harnessing selective histone deacetylase 6 (HDAC6) inhibition to tackle inflammation and fibrotic remodeling in cystic fibrosis (FFC#20/2020, concluded)
39. **Paroni M, Johansen HK**  
Counteracting inflammation triggered by *P. aeruginosa*-activated lung-infiltrating Th1/17 cells: a novel approach for precision medicine in CF (FFC#18/2020, ongoing)

16:55-17:15 Discussion

17:15-17:20 Closing remarks



# FULL INDEX OF ABSTRACTS

## MODULATION OF CFTR FUNCTION

1. <b>Galietta L</b> .....	11
Identification of deubiquitinases and ubiquitin ligases that affect mutant CFTR rescue (FFC#6/2019, concluded)	
2. <b>Netti P, Di Bernardo D</b> .....	11
Investigating epithelial-stromal crosstalk in full thickness cystic fibrosis model on chip for evaluating novel therapeutic strategies (FFC#14/2019, concluded)	
3. <b>Salvi M</b> .....	12
Functional role of post-translational modifications in F508del-CFTR correction (FFC#7/2020, concluded)	
4. <b>Bertozi F</b> .....	13
Characterization of CFTR modulators mechanism of action via Photo-Affinity Labeling (PAL) approach (FFC#4/2020, ongoing)	
5. <b>Bragonzi A, Rossi G</b> .....	14
Bridging airway mucus-microbiota-host genotype to define novel cystic fibrosis models (FFC#2/2019, concluded)	

## RECOVERY OF CFTR FUNCTION BY POTENTIATORS/CORRECTORS: EX VIVO STUDIES

6. <b>Pedemonte N, Cavalli A</b> .....	15
<i>Therotyping</i> orphan mutations in Italian cystic fibrosis patients: efficacy of CFTR modulators and RN5 inhibitors (FFC#9/2019, concluded)	
7. <b>Eramo A, Lucarelli M</b> .....	16
Establishment of conditionally reprogrammed airway epithelial stem cell cultures from nasal epithelia of cystic fibrosis patients: exploring response to CFTR-modulating drugs for correlation with genetic profile ( <i>therotyping</i> ) and restoring CFTR function through gene editing approaches (FFC#8/2020, concluded)	
8. <b>Frulloni L, de Jonge H, Lucidi V</b> .....	17
Intestinal organoids for assessment and pharmacological correction of abnormalities in fluid transport and anion currents in patients affected by pancreatitis (FFC#5/2020, concluded)	
9. <b>Melotti P, de Jonge H, Castaldo G</b> .....	18
<i>Therotyping</i> of rare CFTR genotypes for treatment with CFTR modulators (FFC#9/2020, ongoing)	

## NEW STRATEGIES TO RECOVER MUTATED CFTR FUNCTION

10. <b>Barraja P, Venturini A</b> .....	19
Small nitrogen heterocycles as correctors of the mutant CFTR protein in cystic fibrosis (FFC#3/2020, ongoing)	
11. <b>Cereseto A, Arosio D</b> .....	19
Harnessing CRISPR/Cas technology to revert F508del-CFTR defect (FFC#3/2019, concluded + extension 2021)	
12. <b>Lentini L, Pibri I</b> .....	20
Validation of the distribution and activity of new optimized leads in mouse model and other CF model systems (FFC#6/2020, ongoing)	
13. <b>Amato F</b> .....	21
Peptide-nucleic acids as potential CFTR amplifier molecules for cystic fibrosis treatment (FFC#1/2020, ongoing)	
14. <b>Mangoni M</b> .....	22
Antimicrobial peptides from amphibian skin for treatment of lung pathology in cystic fibrosis: advanced <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> functional characterization (FFC#8/2019, concluded)	
15. <b>Aureli M, Tamanini A</b> .....	23
Lipid-based therapeutic strategies to optimize the effectiveness of innovative drugs to rescue F508del-CFTR (FFC#2/2020, ongoing)	
16. <b>Cozza G, Esposito S, Raia V</b> .....	24
Restoring defective proteostasis in cystic fibrosis: novel strategies for F508del-CFTR repair (FFC#4/2019, concluded) (15')	

## INFECTIONS: EMERGING PATHOGENS AND NEW THERAPEUTIC STRATEGIES

17. <b>Fraziano M</b> .....	25
Preclinical study of a combined host- and pathogen directed approach based on bioactive liposomes and bacteriophages against <i>Mycobacterium abscessus</i> infection (FFC#21/2019, concluded)	
18. <b>Lorè NI</b> .....	26
Unravelling novel biomarkers to define the progression of <i>Mycobacterium abscessus</i> lung disease in cystic fibrosis (FFC#23/2020, ongoing)	
19. <b>Pasca MR, Makarov V, Ramón-García S, Tortoli E</b> .....	26
New weapons against <i>Mycobacterium abscessus</i> and other nontuberculous mycobacteria (FFC#14/2020, pilot project concluded, FFC#18/2021 extension)	
20. <b>Fattorini L, Borroni E</b> .....	27
New drug combinations against nontuberculous mycobacteria infections in cystic fibrosis (FFC#12/2020, pilot project concluded, FFC#17/2021, extension)	

<b>21. Lleo' M</b> .....	28
Investigating <i>Achromobacter xylosoxidans</i> pathogenicity and clinical role in CF lung infection (FFC#18/2019, concluded)	
<b>22. Visca P, Sorrentino R</b> .....	29
Gallium as an antibacterial agent in cystic fibrosis: animal studies for the delivery of inhalable formulations to the clinic (FFC#19/2019, concluded)	
<b>23. Cellini B</b> .....	30
Exploring the dual targeting of host and microbial sphingosine-1-phosphate lyase as antimicrobial strategy in cystic fibrosis (FFC#16/2020, concluded, FFC#19/2021, extension)	
<b>24. Guaragna A, De Gregorio E</b> .....	31
Can old and new sweet glycomimetics act as antibacterial and antibiofilm agents in the treatment of CF lung disease infections? FFC#13/2020, ongoing)	
<b>25. Piacentini M, Raia V</b> .....	32
Targeting the STING/Transglutaminase 2-regulated Interferon response as a novel host- direct approach to fight bacterial infections in cystic fibrosis (FFC#15/2020, ongoing)	

#### CLINICAL RESEARCH

<b>26. Battezzati A, Colombo C, Lucidi V, Lucanto MC, Mari A</b> .....	33
Early derangements of glucose tolerance in cystic fibrosis: effect of CFTR modulators (FFC#24/2019, concluded)	
<b>27. Morana G</b> .....	34
Standardized Ventilation Inflammation Perfusion and Structure (VIPS) MRI platform for monitoring cystic fibrosis lung disease (FFC#26/2019, concluded)	
<b>28. Scaravilli V</b> .....	35
Right ventricle dysfunction in cystic fibrosis patients undergoing lung transplant (FFC#27/2019, ongoing)	
<b>29. Aliverti A</b> .....	36
Use of multivolume MRI to assess response to CFTR modulators (FFC#21/2020, concluded)	
<b>30. Cirilli N, Tiano L, Gesuita R</b> .....	36
Role of viable but non culturable (VBNC) bacterial forms in CF patients in a clinical setting: a translational research (FFC#22/2020 ongoing)	
<b>31. Terlizzi V, Tosco A, Claut LE</b> .....	37
Cystic fibrosis screen positive inconclusive diagnosis (CFSPID): an Italian multicenter survey evaluating prevalence, clinical data, management and outcome (FFC#24/2020, ongoing)	

#### INFECTIONS: *P. AERUGINOSA*

<b>32. Ascenzioni F, Imperi F, Botta B</b> .....	38
Pharmacological inhibition of colistin resistance in gram-negative cystic fibrosis pathogens (FFC#15/2019, concluded)	
<b>33. Biavasco F, Citterio B</b> .....	39
Fighting <i>Pseudomonas aeruginosa</i> persists in cystic fibrosis pulmonary infections: improved detection and therapeutic strategies (FFC#16/2019, concluded)	
<b>34. Bertoni G</b> .....	40
Targeting small RNA-mediated regulation of virulence and antibiotic resistance to develop non-traditional therapeutic options against <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (FFC#10/2020, ongoing)	
<b>35. Brun P</b> .....	41
Disrupting <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Quorum Sensing signalling in cystic fibrosis patients as a new frontier for antibacterial therapy (FFC#11/2020, concluded) (15')	

#### INFLAMMATION

<b>36. Recchiuti A, Aloisi A</b> .....	42
Nanotechnology-based Resolvin D1 as proresolving therapy in cystic fibrosis: preclinical studies for the delivery of innovative formulations to the clinic (FFC#19/2020, pilot project concluded, FFC#20/2021 extension)	
<b>37. Giovagnoli S</b> .....	43
Oral and pulmonary delivery platforms for anakinra repurposing in cystic fibrosis (FFC#17/2020, ongoing)	
<b>38. Summa V, Altucci L</b> .....	44
Harnessing selective histone deacetylase 6 (HDAC6) inhibition to tackle inflammation and fibrotic remodeling in cystic fibrosis (FFC#20/2020, concluded)	
<b>39. Paroni M, Johansen HK</b> .....	44
Counteracting inflammation triggered by <i>P. aeruginosa</i> -activated lung-infiltrating Th1/17 cells: a novel approach for precision medicine in CF (FFC#18/2020, ongoing)	

#### ABSTRACTS OF 2021 NEW FFC RICERCA PROJECTS

<b>40. Armirotti A, Sondo E</b> .....	46
Multiomics exploration of the CF primary bronchial epithelium lipidome and its role on CFTR rescue (FFC#1/2021, new)	
<b>41. Chilin A, Lukacs G</b> .....	46
Toward the development of tailored therapies for insensitive CF gating mutations (FFC#3/2021, new)	
<b>42. Di Leonardo A, Melfi R</b> .....	47
<i>In vitro</i> evaluation of novel sequence-specific RNA editing tools to rescue nonsense mutant CFTR transcript (FFC#5/2021, new)	

<b>43. Laselva O, Lucidi V, Pesole G</b> .....	48
Enhancing the prediction of clinical responses to CFTR modulators by in vitro assays using patient-derived tissues under conditions mimicking native status of CF airways (FFC#6/2021, new)	
<b>44. Laudanna C</b> .....	49
Monocyte integrin activation as a cystic fibrosis drug evaluation test - validation phase (FFC#7/2021, new)	
<b>45. Lucarelli M, Eramo A</b> .....	50
<i>Therotyping</i> of cystic fibrosis (FFC#8/2021, new)	
<b>46. Millo E, Cichero E, Bruzzone S</b> .....	51
Lead optimization of MKT-077 analogues as HSP70 allosteric inhibitors combined with F508del CFTR correctors: a multi-drug approach to contrast cystic fibrosis (FFC#9/2021, new)	
<b>47. Scudieri P, Ciciriello F</b> .....	52
Alternative targets for the treatment of cystic fibrosis basic defect (FFC#11/2021, new)	
<b>48. Batoni G, Pompilio A</b> .....	53
Probiotics: an emerging strategy to fight bacterial pulmonary infections in CF (FFC#13/2021, new)	
<b>49. Briani F</b> .....	53
Tackling phage resistance to increase the robustness of phage therapy for curing <i>P. aeruginosa</i> infections in patients with cystic fibrosis (PhaCyf) (FFC#15/2021, new)	
<b>50. Cigana C, Girelli D, Fiscarelli EV</b> .....	54
Linking elxacaftor/tezacaftor/ivacaftor to infections in cystic fibrosis lung disease (FFC#16/2021, new)	
<b>51. Serafini G</b> .....	55
Mental health in cystic fibrosis patients: the prognostic role of temperament, personality and attachment styles (FFC#21/2021, new)	



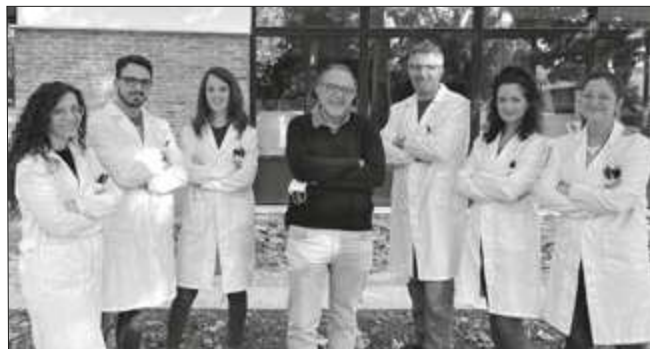
## MODULATION OF CFTR FUNCTION

### 1. Identification of deubiquitinases and ubiquitin ligases that affect mutant CFTR rescue

**Borrelli A, Musante I<sup>§</sup>, Renda M, Genovese M, Venturini A, Galiotta LJV**

Telethon Institute of Genetics and Medicine (TIGEM, Pozzuoli, Italy),

<sup>§</sup>Present address: Istituto Giannina Gaslini (Genova, Italy) (FFC#6/2019, concluded)



Luis Galiotta, in the middle, with his collaborators

**Background and hypothesis** - F508del, the most frequent mutation in cystic fibrosis, impairs the folding and stability of the CFTR chloride channel. Treatment with first generation correctors, such as VX-809 (i.e. lumacaftor) and VX-661 (i.e. tezacaftor), does not impede that a significant fraction of F508del-CFTR is eliminated by cell quality control mechanisms based on ubiquitination-dependent degradation.

**Rationale and objectives of the project** - Our proposal aims at the identification of deubiquitinases (DUBs) and ubiquitin ligases (UBLs) that control mutant CFTR degradation. We also aim at the identification of pharmacological strategies to improve the rescue of mutant CFTR by either blocking the cell mechanisms involved in CFTR degradation or by directly targeting the CFTR protein itself.

**Essential methods** - We use small molecules and gene silencing, combined with functional and biochemical assays, to identify the proteins that are involved in F508del-CFTR processing and identify effective rescue approaches. We are also using bulk and single cell RNA sequencing to define the transcriptome of CFTR-expressing airway epithelial cells.

**Results** - Using gene silencing by siRNA transfection, we have identified a panel of DUBs (USP13, USP15, UCHL1, BAP1, USP39, OTUD7B) and UBLs (HUWE1) that influence F508del-CFTR rescue by corrector VX-809. While silencing of USP15 and USP13 induces the expected decrease in F508del-CFTR rescue, the silencing of BAP1, USP39, and OTUD7B actually has the opposite effect, which suggests a more indirect mechanism of action. We also tested combinations of class 1 and class 3 correctors. In this case, the marked increase in F508del-CFTR rescue is paralleled by a significant decrease in protein degradation by ubiquitination mechanisms, thus indicating that class 3 correctors have a significant protective effect. When tested in primary airway epithelial cells, the most effective treatments appear to specifically improve F508del-CFTR trafficking in FOX11-positive cells, i.e. ionocytes.

**Conclusions** - So far, combinations of correctors having complementary mechanisms of action appear to be the most effective maneuvers on F508del-CFTR expression and function compared to proteostasis modulators. It has to be defined whether the efficacy of corrector combinations is still limited to some extent by protein degradation mechanisms.

### Identificazione di deubiquitinasi e ubiquitina-ligasi che influenzano la correzione della proteina CFTR mutata

**Razionale dello studio** - La mutazione più frequente nei pazienti con fibrosi cistica è F508del, che provoca un grave difetto di stabilità e maturazione della proteina CFTR. Per il trattamento dei pazienti con F508del sono a disposizione dei farmaci, chiamati correttori, la cui efficacia può essere però limitata da processi cellulari che provocano la degradazione della proteina mutata.

**Ipotesi e obiettivi** - La nostra ipotesi è che la proteina CFTR con F508del, nonostante il trattamento con correttori, sia in parte eliminata a causa di proteine intracellulari chiamate ubiquitina-ligasi (UBL). Le UBL agiscono da controllori; riconoscono la proteina CFTR con la mutazione F508del e attaccano a essa l'ubiquitina, una specie di etichetta molecolare che ne determina l'eliminazione. Esistono anche proteine con azione contraria: queste sono le deubiquitinasi (DUB) che rimuovono l'ubiquitina salvando le proteine dalla degradazione. Il nostro obiettivo è identificare le UBL e le DUB che controllano il destino della proteina CFTR mutata. Al tempo stesso cerchiamo composti chimici che possono recuperare la funzione della proteina CFTR, agendo su UBL/DUB o direttamente sulla proteina CFTR stessa.

**Metodi essenziali** - Per il nostro studio usiamo cellule in coltura che esprimono la proteina CFTR con la mutazione F508del. Su queste cellule valutiamo l'effetto del silenziamento di geni corrispondenti a UBL e DUB e l'effetto di composti chimici con attività correttiva. Esperimenti di verifica vengono poi condotti su cellule epiteliali delle vie aeree di pazienti con fibrosi cistica.

**Risultati** - Abbiamo identificato un piccolo pannello di DUB e di UBL (USP13, USP15, UCHL1, BAP1, USP39, OTUD7B, HUWE1) che, se opportunamente modulate mediante silenziamento, mostrano di cambiare la funzione della proteina CFTR mutata. Abbiamo anche effettuato esperimenti in cui le cellule sono state trattate con combinazioni di correttori con meccanismo d'azione complementare. I risultati indicano un effetto protettivo nei confronti dei processi degradativi con migliore recupero della funzione di CFTR.

**Conclusioni** - I nostri risultati potranno favorire lo sviluppo di strategie per migliorare l'efficacia di trattamenti farmacologici per la proteina CFTR con F508del e altre mutazioni simili. Si può infatti ipotizzare lo sviluppo di farmaci mirati che, promuovendo l'attività di DUB e/o inibendo l'attività di UBL, avranno l'effetto desiderato di proteggere la CFTR mutata favorendo l'azione dei correttori.

### 2. Investigating epithelial-stromal crosstalk in full thickness cystic fibrosis model on chip for evaluating novel therapeutic strategies

**Netti P<sup>1</sup>, Di Bernardo D<sup>2</sup>, Galiotta LJV<sup>3</sup>, Imparato G<sup>1</sup>, Urciuolo F<sup>1</sup>, Mazio C<sup>1</sup>, Viscido G<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Fondazione Istituto Italiano di Tecnologia, <sup>3</sup>Telethon Institute of Genetics and Medicine, Pozzuoli (NA), <sup>2</sup>Centro di Ricerca Interdipartimentale sui Biomateriali, Università di Napoli, <sup>3</sup>Telethon Institute of Genetics and Medicine, Pozzuoli (NA), (FFC#14/2019, concluded)

**Background, problem, hypothesis** - Several human epithelial in vitro models have been developed with the aim to study pathogenetic mechanisms of cystic fibrosis (CF) and evaluate response to therapy. Nevertheless, few models use microfluidic platforms and none consider the role of the extracellular matrix in the disease. We



Paolo Netti (second from left in the big picture), in charge of the project, and Diego di Bernardo (top left), research partner

hypothesized that the dynamic culture condition on chip could improve tissue functions in vitro and that the airway connective tissue has a role in the evolution of the pathology.

**Rationale and objectives** - Previously we demonstrated that human lung fibroblasts (HLF) showed significant alterations in CF, with pro-fibrotic features and over-expression of genes involved in epithelial function and inflammatory response. These data indicated that epithelial/stromal communication may have a role in determining CF progression. The main objective of the project was to investigate this crosstalk in CF. We exploited the CF full thickness model (FT), comprising of the human bronchial epithelium (HBE) on the connective airway tissue (CAT), and the microfluidic chip, as tool for tissue culture, monitoring and drug administration.

**Essential methods** - The FT was obtained by using a tissue engineering strategy involving the use of primary HLF and bronchial epithelial cells (HBEc). Fluid dynamic conditions were set in accordance with literature and simulations. Electrical measurements were performed by impedance analysis thanks to electrodes integrated into the chip and connected to a Potentiostat. Histology and immunofluorescence were used to investigate tissue morphology. Mucus viscosity was evaluated by multiple particles tracking whereas mucus thickness by aerosolizing fluorescent nano-particle on the apical sample side and confocal analysis.

**Results** - HBEc differentiated on the CAT with the presence of cilia and mucus. Mucus viscosity was higher in CF than non-CF samples. HBEc formed gland-like structures into the stroma, expressing both lactoferrin and mucin, thus demonstrating their secreting function. Mucus viscosity in CF-FT was higher than CF-HBE without the stroma. To investigate epithelial/stromal crosstalk, we separated the HBE from the CAT and we are going to perform transcriptomic analysis. Furthermore, we evaluated that the microfluidic chip stimulated HBE differentiation, with an earliest pick of the TEER, higher quantity of mucus and cilia, increased polarization and capacitance. VX-809 (i.e. lumacaftor) administration on chip induced the reduction of mucus viscosity and thickness.

**Conclusions** - The understanding of epithelial/stromal crosstalk in CF may indicate novel putative therapeutic targets to rescue pulmonary function. Furthermore, the microfluidic chip represents a platform suitable for drug administration, tissue culture and functional analysis.

### Investigare l'interazione tra epitelio e stroma in un modello di fibrosi cistica "a tutto spessore" su chip per valutare nuove strategie terapeutiche

**Razionale dello studio** - Nel tempo sono stati sviluppati in laboratorio diversi modelli epiteliali di fibrosi cistica (FC), con l'obiettivo di studiarne i meccanismi patogenetici e valutare la risposta ai farmaci. Tuttavia, pochi modelli usano chip microfluidici e nessuno considera il ruolo dello stroma nella malattia. Studi preliminari dimostrano che sia la tecnologia su chip sia la presenza dello stroma rappresentano elementi fondamentali per riprodurre il microambiente fisico/chimico degli organi viventi. Inoltre, in un nostro lavoro antecedente, abbiamo dimostrato che i fibroblasti (HLF) dello stroma polmonare mostrano alterazioni significative

in FC, con caratteristiche pro-fibrotiche e over-espressione di geni coinvolti nella funzione epiteliale e nella risposta infiammatoria, indicando che, oltre all'epitelio, anche lo stroma può avere un ruolo nel determinare la progressione della FC.

**Ipotesi e obiettivi** - L'ipotesi è che la condizione di coltura dinamica su chip possa migliorare le caratteristiche dei modelli di FC e che lo stroma abbia un ruolo nell'evoluzione della patologia. L'obiettivo principale del progetto è stato quello di studiare l'interazione tra epitelio e stroma in FC, sfruttando il modello polmonare FC a tutto spessore (FT) da noi sviluppato (comprendente l'epitelio bronchiale (HBE) sul tessuto connettivo/stroma delle vie aeree (CAT)) e il chip microfluidico, utile per la coltura dei tessuti, il monitoraggio e la somministrazione di farmaci.

**Metodi essenziali** - Il modello FT è stato ottenuto usando una strategia di ingegneria dei tessuti che prevedeva l'uso di cellule estratte da biopsie di pazienti FC. Le condizioni microfluidiche sono state stabilite in accordo con la letteratura e simulazioni. Le misure elettriche sono state eseguite grazie ad elettrodi integrati nel chip e collegati a un potenziostato. L'istologia e l'immunofluorescenza sono state usate per studiare la morfologia dei tessuti. La viscosità del muco è stata valutata tracciando il movimento di particelle all'interno del fluido mentre lo spessore mediante deposizione di nanoparticelle fluorescenti tramite aerosol sulla superficie del fluido.

**Risultati** - L'HBE differenziato sul CAT ha mostrato la presenza di ciglia e muco. La viscosità del muco era maggiore nei modelli FC rispetto ai non FC. Le epiteliali hanno formato strutture simil ghiandolari nello stroma, positive per lattoferrina e mucina, dimostrando la loro funzione secretore. La viscosità del muco nei modelli FT era più alta degli HBE senza stroma. Per studiare la comunicazione epiteliale/stromale, abbiamo separato l'HBE dal CAT e stiamo per eseguire analisi trascrittomiche. Inoltre, abbiamo valutato che il chip microfluidico è in grado di stimolare il differenziamento dell'HBE, con un picco più precoce della TEER, maggiore quantità di muco e ciglia, maggiore polarizzazione e capacità. La somministrazione di VX-809 (i.e. lumacaftor) sul chip ha indotto la riduzione della viscosità e dello spessore del muco.

**Conclusioni** - La comprensione dell'interazione epiteliale/stromale in FC può indicare nuovi putativi bersagli terapeutici per il recupero della funzione polmonare. Inoltre, il chip microfluidico rappresenta una piattaforma adatta per la somministrazione di farmaci, la coltura tissutale e l'analisi funzionale dei modelli FC.

### 3. Functional role of post-translational modifications in F508del-CFTR correction

D'Amore C, Khaskheli HK, Cesaro L, Borgo C, Salvi M

Dip. Scienze Biomediche, Università di Padova (FFC#7/2020, concluded)



Mauro Salvi (second from the left) with his research group

**Background and hypothesis** - Deletion of phenylalanine at position 508 (F508del) in CFTR is the most frequent mutation causative of cystic fibrosis (CF). F508 deletion is the prototype of class II mutations resulting in protein misfolding, defective CFTR protein traffick-

ing, and premature ubiquitin-dependent proteasomal degradation. Recently it has been identified several posttranslational modifications (PTMs) associated with the maturation of CFTR. A subset of these PTMs, collectively named "PTM code" was suggested to have a role in the maturation of F508del-CFTR. Moreover, the identification of this PTM code suggested that methylation, and in particular cross-talk between methylation, ubiquitination, and other post-translational modifications, could be an unexplored posttranslational mechanism for F508del functional rescue. In our previous one-year pilot project (FFC#11/2019) we showed that the PTM-code is dispensable for the functional recovery of F508del-CFTR. However, using an RNA interference library we have identified a panel of demethylases whose silencing improves the F508del rescue induced by correctors.

**Rationale and objectives of the project** - This project aims to understand if the control of specific post-translational modification could be effective to improve the F508del-CFTR rescue.

**Essential methods** - We have used F508del-CFTR CFBE expressing cells and primary human bronchial F508del-CFTR cells. F508del protein rescue has been assayed by western blotting (quantifying the expression of band B and band C), immunofluorescence, and plasma membrane protein biotinylation. The functional rescue of the channel has been assessed by the HS-YFP assay.

**Results** - Using a siRNA library against all human demethylases we have identified a panel of proteins whose silencing improved the correction of F508del-CFTR induced by Vertex compounds. We have investigated the molecular mechanisms responsible for these effects by assaying F508del transcription, protein stability, and changes in the expression of components of the chaperone machinery, showing that KDM2A and KDM3B are the most promising target to improve F508del rescue. We have also investigated by a mutational analysis the role of CFTR lysines subjected to methylation. Since lysines in CFTR as also subjected to sumoylation and ubiquitination, we have assayed the efficacy of some new small specific inhibitors of these post-translational modifications on F508del rescue.

**Conclusions** - Our project led to the identification of two demethylases as new molecular targets for the improvement of F508del rescue induced by correctors. Further works will be necessary for the development of specific small molecules inhibitors of these targets and their validation in preclinical models.

## Ruolo delle modifiche post-traduzionali nel recupero funzionale di F508del-CFTR

**Razionale dello studio** - La delezione di un singolo aminoacido nella posizione 508 (F508del) di CFTR è la più frequente mutazione che causa la fibrosi cistica. La delezione di F508 è il prototipo delle mutazioni di classe II che sono responsabili di un ripiegamento non corretto della proteina, del suo accumulo a livello del reticolo endoplasmico e di una prematura degradazione da parte del proteasoma. Recentemente è stato identificato un cluster di modifiche post-traduzionali, chiamato "PTM code" che è stato associato alla maturazione di CFTR normale e al recupero funzionale della mutazione F508del. Inoltre, l'identificazione di questo PTM code suggerisce che la metilazione, e in particolare un crosstalk tra metilazione, ubiquitinazione e altre modifiche post-traduzionali possano avere un ruolo nel recupero funzionale di F508del. Nel nostro precedente progetto pilota (FFC#11/2019) abbiamo dimostrato che il PTM-code non ha effetto sul recupero funzionale di F508del-CFTR. Tuttavia, usando una libreria di siRNA abbiamo identificato alcune demetilasi il cui silenziamento migliora il recupero funzionale di F508del indotto da correttori.

**Ipotesi e obiettivi** - Scopo di questo progetto è dimostrare se il controllo di specifiche modifiche post-traduzionali possano favorire o meno il recupero funzionale di F508del-CFTR.

**Metodi essenziali** - Abbiamo usato cellule CFBE recanti la mutazione F508del in omozigosi e cellule primarie bronchiali F508del. La maturazione di F508del è stata quantificata mediante western blotting, immunofluorescenza, e mediante saggi di biotinylation delle proteine di membrana. Il recupero funzionale del canale è stato quantificato mediante il saggio HS-YFP.

**Risultati** - Usando una libreria di siRNA contro tutte le demetilasi umane abbiamo identificato un gruppo di proteine il cui silenziamento migliora la correzione indotta dai composti della Vertex. In questo progetto abbiamo investigato i meccanismi molecolari responsabili di questi effetti andando a valutare gli effetti del silenziamento sulla trascrizione e stabilità di F508del e gli effetti sull'espressione delle chaperon coinvolte nel processamento di F508del. Mediante un approccio mutazionale abbiamo poi analizzato il ruolo funzionale delle lisine in CFTR sottoposte a metilazione. Poiché le lisine possono anche essere sumoilate e ubiquitinate, abbiamo testato l'efficacia di alcuni nuovi inibitori specifici di queste modifiche post-traduzionali sul recupero funzionale di F508del.

**Conclusions** - Il nostro progetto ha portato all'identificazione di alcune demetilasi come nuovi bersagli molecolari la cui inibizione potrebbe migliorare l'effetto dei correttori. Ulteriore lavoro sarà necessario per identificare inibitori specifici di queste proteine e per la loro validazione in modelli preclinici.

## 4. Characterization of CFTR modulators mechanism of action via Photo-Affinity Labeling (PAL) approach

Bertozzi F, Romeo E, Saccoliti F

Istituto Italiano di Tecnologia, IIT - D3 - Chimica Farmaceutica (FFC#4/2020, ongoing)



Fabio Bertozzi, on the right, with IIT collaboratos Elisa Romeo and Francesco Saccoliti

**Background and hypothesis** - Cystic fibrosis (CF) is a genetic disease characterized by an impairment in the synthesis or function of CF transmembrane conductance regulator (CFTR) anion channel, caused by mutations in CFTR gene. Within the "Task Force for Cystic Fibrosis" project, our group discovered ARN23765, a CFTR corrector with a sub-nanomolar potency in rescuing the function of mutant CFTR in primary human bronchial epithelial cells from F508del/F508del CF patients. Despite the validated pharmacological effects, the mechanism of action of ARN23765 has not yet been defined. CFTR correctors may act by directly binding to F508del-CFTR or by modulating the activity of other proteins involved in the cell quality control system or the protein trafficking machinery.

**Rationale and objectives of the project** - The aim of our project is to identify the biological target(s) and the mechanism of action of ARN23765 by Photo-Affinity Labeling (PAL) studies. Furthermore, the discovery of off-targets unrelated to the known CFTR-interacting proteins will also be an important finding, helping to possibly predict the potential side effects of the compound.

**Essential methods** - The experimental strategy is based on the design and synthesis of chemical probes structurally related to ARN23765, carrying both a photo-reactive moiety and a reporter/purification tag, or a chemical group for the ligation to such a tag. These photo-affinity probes are incubated with cells or cell lysates expressing either wild type (wt) or F508del-CFTR, and then activated by UV light to cross-link to bio-molecules in close proximity. The reporter molecule bound to the probe enables detecting and isolating

compound-protein adducts for target(s) identification analysis by Western blot and/or mass spectrometry.

**Results** - We successfully synthesized few ARN23765-like photo-affinity probes featuring key-reactive groups needed for photo cross-linking and detection of generated adducts. These chemical probes showed a good activity in rescuing F508del-CFTR function in a cell-based assay and led to the detection of protein bands, representing possible targets, in gel fluorescence and pull-down experiments. Notably, we identified CFTR among probe-pulled-down proteins from wt-CFTR-overexpressing CFBE41o- cells.

**Conclusions** - Although still preliminary, our data show that ARN23765-like photo-affinity probes bind to CFTR in cells, indicating that corrector ARN23765 may reasonably act directly on CFTR, overall helping its rescuing and trafficking. The binding site of ARN23765 to CFTR as well as the nature of the others detected targets are still under evaluation.

## Caratterizzazione del meccanismo di azione di modulatori di CFTR attraverso una tecnica di marcatura indotta da foto-attivazione

**Razionale dello studio** - La fibrosi cistica (FC) è una malattia genetica rara caratterizzata dalla compromissione della sintesi o della funzione della proteina CFTR, causata da mutazioni nel gene che la codifica. All'interno del progetto *Task Force for Cystic Fibrosis*, il nostro gruppo ha scoperto ARN23765, un correttore di F508del-CFTR, che mostra un'elevata potenza nel ristabilire la funzione della proteina mutata in cellule epiteliali bronchiali primarie da pazienti F508del/F508del. Nonostante i dimostrati effetti biologici, il meccanismo d'azione di ARN23765 non è stato ancora ben definito. I correttori di CFTR possono infatti agire legandosi direttamente a F508del-CFTR o modulando l'attività di altre proteine coinvolte nel sistema di controllo cellulare.

**Ipotesi e obiettivi** - L'obiettivo del nostro progetto è identificare possibili bersagli biologici e il meccanismo d'azione di ARN23765 attraverso un approccio biochimico di marcatura indotta da foto-attivazione, noto come Photo-Affinity Labeling (PAL). Inoltre, l'eventuale scoperta di proteine non direttamente correlate a CFTR sarà di possibile aiuto per comprendere e studiare potenziali effetti collaterali del composto.

**Metodi essenziali** - L'approccio sperimentale è basato sulla progettazione e sintesi di sonde chimiche strutturalmente correlate a ARN23765, caratterizzate dalla presenza di una porzione fotoreattiva e di un marcatore molecolare o di uno specifico gruppo chimico che consente il legame con il marcatore stesso. Queste sonde foto-attivabili sono inizialmente incubate con cellule o lisati cellulari che esprimono CFTR nativa (wt) o mutata (F508del) e in seguito attivate dalla luce UV, generando specie altamente reattive che si legano alle biomolecole nelle immediate vicinanze. Il marcatore legato alla sonda consente di rilevare e isolare gli addotti tra il composto e la proteina per l'analisi e l'identificazione del bersaglio mediante Western blot e/o spettrometria di massa.

**Risultati** - Abbiamo sintetizzato con successo alcune sonde strutturalmente simili ad ARN23765 dotate dei gruppi reattivi necessari per la foto-attivazione e il rilevamento degli addotti generati. Questi composti hanno mostrato una buona attività nel recupero della funzione di F508del-CFTR in saggi cellulari e hanno portato alla rilevazione di bande proteiche, quali possibili bersagli, in esperimenti di elettroforesi e arricchimento delle proteine legate alle sonde. In particolare, in cellule CFBE41o- che esprimono wt-CFTR, tra le proteine catturate dalla sonda abbiamo chiaramente identificato CFTR.

**Conclusioni** - Sebbene ancora preliminari, i nostri dati mostrano che le sonde foto-attivabili simili a ARN23765 si legano a CFTR nelle cellule. Questo suggerisce che il correttore ARN23765 possa ragionevolmente agire direttamente su CFTR, aiutando nel complesso il suo recupero. La modalità di legame di ARN23765 a CFTR e la natura degli altri bersagli rilevati sono ancora in fase di valutazione.

## 5. Bridging airway mucus-microbiota-host genotype to define novel cystic fibrosis models

Sipione B<sup>1</sup>, Rossi G<sup>2</sup>, Sanvito F<sup>3</sup>, Neri A<sup>1</sup>, Gianferro F<sup>1</sup>, Cigana C<sup>1</sup>, Tascini S<sup>4</sup>, Pedemonte N<sup>5</sup>, Livraghi A<sup>6</sup>, Bragonzi A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Infection and Cystic Fibrosis Unit, San Raffaele Scientific Institute, Milan, Italy, <sup>2</sup>School of Biosciences and Veterinary Medicine, University of Camerino, Matelica, Italy, <sup>3</sup>Pathological Anatomy Unit, IRCCS San Raffaele Scientific Institute, <sup>4</sup>Center for Omics Sciences, San Raffaele Scientific Institute, <sup>5</sup>UOC Genetica Medica, IRCCS Istituto Giannina Gaslini, Genova, Italy, <sup>6</sup>Cystic Fibrosis/Pulmonary Research and Treatment Center, The University of North Carolina at Chapel Hill, USA (FFC#2/2019, concluded)



Alessandra Bragonzi, on the right, and collaborators

**Background and hypothesis** - In humans, gene modifiers have been shown to modulate CF lung pathology, but CF animal models that recapitulate the genetic diversity have not been generated. We hypothesized that host genetic background influences CF pathology also in mice.

**Razionale and objectives** - The Collaborative Cross (CC) mice can be leveraged to recapitulate the allelic diversity of the human population. We previously introduced the F508del-CFTR mutation in the CC037 line, selected for its susceptibility to *P. aeruginosa* infection, to generate new CF mice. Here, we aimed to establish whether high allelic diversity impacts on lung phenotype, expression of CFTR and airway ion transport.

**Essential methods** - The new F508del-CFTR CC037 mice have been explored for phenotypic characterization, whole genome sequence analysis and salivary secretory response in comparison with existing F508del-CFTR C57BL/6J line.

**Results** - F508del-CFTR mutation and host genetic background influence survival and body weight. CC037 F508del/F508del mice showed more severe lethality and failure to thrive under laxative treatment compared to C57BL/6 F508del/F508del, indicating a more dramatic phenotype. Histopathology of CC037 F508del/F508del airways showed significant variation in the offspring of different breeding pairs and at different generations. Abundance or localization of mucous secretory cells were more abundant in the proximal portion of the main stem bronchus as compared to more distal regions, but variable both in the F508del/F508del and wt/wt mice. Whole genome sequence analysis showed that two generations of CC037 mice are different in a small genomic region of chromosome 6, in proximity of the CFTR locus, indicating possible genetic contributions to phenotypic variability. The CC037 strains has the NOD/ShiLJ founder haplotypes for the CFTR locus, that makes this line substantially different from those previously reported in the C57BL/6J background. Two folds more CFTR in the trachea of CC037 line was detected in comparison to C57BL/6J mice, while similar levels of CFTR were measured in the lung. Pharmacological modulation of salivary secretion revealed that the cAMP-dependent fraction was similar whereas the Ca<sup>2+</sup> stimulated component was decreased in the CC037 compared to C57BL/6J line.

**Conclusions** - These results support the role of host genetics in addition to CFTR mutations as major contributors to CF pathology and underline the need to explore CC lines to generate disease-specific models.



## Correlare muco-microbiota-genotipo per definire nuovi modelli animali di fibrosi cistica

**Razionale dello studio** - Nei pazienti con FC, il gene difettoso CFTR provoca una malattia polmonare principalmente caratterizzata da: disidratazione delle vie aeree, stasi di muco, infiammazione, infezioni e bronchiectasie. Ulteriori fattori critici che possono influenzare la gravità della patologia polmonare FC sono i geni modificatori della malattia. I modelli animali FC di piccola taglia generati fino a ora, aventi una mutazione funzionale di CFTR, hanno mostrato minori alterazioni patologiche nei polmoni. Nonostante nell'uomo vi siano evidenze che oltre a mutazioni in CFTR anche la diversità genetica individuale possa determinare una sostanziale variazione fenotipica, non sono stati generati modelli animali che replicano tali caratteristiche della popolazione umana. Questo ha lasciato senza risposta importanti domande sulla patogenesi e sulla possibilità di testare correttamente l'efficacia delle terapie.

**Ipotesi e obiettivi** - Sfruttando i topi Collaborative Cross (CC) per replicare le variazioni genotipiche/fenotipiche della popolazione umana, abbiamo generato un nuovo modello murino con la mutazione F508del-CFTR. Abbiamo usato questo nuovo modello a confronto con quelli già esistenti per stabilire se il profilo genetico dell'ospite ha un impatto diretto sul fenotipo polmonare, sull'espressione di CFTR e sul trasporto ionico delle vie aeree.

**Metodi essenziali** - I nuovi topi F508del-CFTR CC037 sono stati caratterizzati fenotipicamente, sequenziati nell'intero genoma e valutati per la risposta secretoria salivare rispetto a modelli murini già esistenti F508del-CFTR C57BL/6J.

**Risultati** - Abbiamo dimostrato che non solo la mutazione F508del-CFTR ma anche il profilo genetico dell'ospite possono influenzare la sopravvivenza, il peso e il generale stato di salute. Nonostante possiedano la stessa mutazione F508del-CFTR, il profilo genetico di CC037 mostra una letalità più grave e una ridotta crescita rispetto al modello esistente C57BL/6J, indicando un fenotipo più drammatico. Abbiamo inoltre rilevato un fenotipo variabile delle vie aeree, probabilmente dipendente dalle diverse generazioni e coppie riproduttive. L'analisi della sequenza dell'intero genoma ha mostrato differenze in prossimità del locus CFTR in diverse generazioni, indicando possibili contributi genetici al fenotipo. L'espressione di CFTR nella trachea è risultata diversa e dipendente dal profilo genetico dell'ospite, mentre livelli simili di CFTR sono stati rilevati nel polmone. La stimolazione farmacologica della secrezione salivare suggerisce che i due profili genetici murini hanno un contributo simile di CFTR ma diverso per i canali alternativi del cloro.

**Conclusioni** - Questi dati supportano il ruolo chiave del profilo genetico dell'ospite in aggiunta alla mutazione CFTR nel determinare la patologia FC. I nuovi modelli murini di FC possono contribuire a studi di base e traslazionali focalizzati sui meccanismi della malattia e sulle cause della variazione fenotipica.

## RECOVERY OF CFTR FUNCTION BY POTENTIATORS/CORRECTORS: EX VIVO STUDIES

### 6. Therotyping orphan mutations in Italian cystic fibrosis patients: efficacy of CFTR modulators and RNF5 inhibitors

Sondo E<sup>1</sup>, Cresta F<sup>2</sup>, Tomati V<sup>1</sup>, Capurro V<sup>1</sup>, Pastorino C<sup>1</sup>, Lena MT<sup>1</sup>, Pesce E<sup>1</sup>, Bertozzi F<sup>3</sup>, Armirotti A<sup>4</sup>, Bandiera T<sup>3</sup>, Galiotta LJV<sup>5</sup>, Castellani C<sup>2</sup>, Bocciardi R<sup>6</sup>, Cavalli A<sup>7</sup>, Pedemonte N<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UOC Genetica Medica, IRCCS Istituto Giannina Gaslini, Genova, <sup>2</sup>UOSD Centro Fibrosi Cistica, IRCCS Istituto Giannina Gaslini, Genova, <sup>3</sup>D3-PharmaChemistry, Istituto Italiano di Tecnologia, Genova, <sup>4</sup>Analytical Chemistry Lab, Istituto Italiano di Tecnologia, Genova, <sup>5</sup>Telethon Institute of Genetics and Medicine, Pozzuoli (NA), <sup>6</sup>Dipartimento di Neuroscienze, Riabilitazione, Oftalmologia, Genetica e Scienze Materno-Infantili (DINOEMI), Università di Genova, <sup>7</sup>Computational and Chemical Biology, Istituto Italiano di Tecnologia, Genova (FFC#9/2019, concluded – FFC#10/2021, new)



Nicoletta Pedemonte (left), researcher in charge of the project, with Renata Bocciardi and Andrea Cavalli, research partners

**Background and hypothesis** - Cystic fibrosis (CF) is due to loss-of-function mutations of the CFTR channel. In Italy, 30% of patients carry variants not included among those for which CFTR-modulating drugs have been approved and are thus defined as "orphan mutations". Some of these mutations are uncharacter-

ized and have unknown sensitivity to CFTR modulators, while for others there are already evidences that might be responsive.

**Rationale and objectives of the project** - Our study aims at providing each CF patient with the best therapeutic option available by assessing its responsiveness to the different treatments, thus defining its "theratype". The project, relying on the use of patients' nasal epithelial cells, will focus on: 1. understanding the molecular mechanism by which orphan mutations cause CFTR loss of function; 2. defining their responsiveness to CFTR modulators.

**Essential methods** - Epithelial cells will be obtained by nasal brushing, performed following standardized medical procedures. Epithelial cells will be expanded using a well-established protocol based on the use of the SMAD inhibitors. The effect of already approved drugs or new compounds under development, in single or combined treatment of nasal epithelia will be tested by means of electrophysiological techniques, routinely performed in our laboratory in the frame of different CFTR-focused research projects.

**Preliminary results** - In the previous project, we created a network of CF centers willing to have their patients characterized in term of responsiveness to CFTR modulators. We established primary cultures of nasal epithelial cells collected from approx. 150 patients bearing orphan mutations, such as P5L, G85E, R347P, N1303K, I556V, T1036I, G622D, V317A, R1066C, M1V, L1077P. We have been able to identify effective modulators for more than 50% of the patients enrolled. The level of CFTR rescue varies from 5% to 80% compared to that measured in non-CF nasal cells. The study also highlighted the existence of mutations poorly responsive, that will require further optimized treatments.

**Conclusions** - Many Italian CF patients carry uncharacterized mutations that might be responsive to CFTR modulators. So far, our study has indeed demonstrated that a significant fraction of Italian patients bear mutations that can be rescued by potentiators and correctors, and thus they might benefit from treatment with these drugs. Our study will help in the selection of the best drugs to define a personalized treatment for CF patients with rare and yet uncharacterized mutations.

## Mutazioni orfane presenti nei pazienti italiani: soddisfare i bisogni insoddisfatti

**Razionale dello studio** - Le mutazioni che causano fibrosi cistica (FC) determinano vari tipi di difetti che portano alla perdita di funzione della proteina CFTR. Composti chimici chiamati modulatori possono recuperare la funzione di CFTR correggendone i difetti. Diversi farmaci sono già stati approvati per l'uso sui pazienti con determinate mutazioni. Tuttavia, molti pazienti sono portatori di mutazioni poco o per nulla studiate (definite orfane), la cui responsabilità ai modulatori rimane da determinare. È quindi necessario poter disporre di modelli cellulari biologicamente rilevanti per la patologia che permettano di predire la responsività dei pazienti portatori di mutazioni orfane ai vari farmaci.

**Ipotesi e obiettivi** - Obiettivo di questo progetto è quello di poter fornire a ogni persona con FC un'opportunità di trattamento. Le colture primarie di cellule nasali derivate da soggetti FC possono essere ottenute con una procedura poco invasiva e costituiscono una risorsa preziosissima perché permettono di studiare l'attività di CFTR e l'effetto dei modulatori per ogni singolo paziente.

**Metodi essenziali** - L'obiettivo principale del nostro progetto è di determinare la risposta di pazienti di vari centri FC a diversi modulatori attraverso l'uso delle colture di cellule nasali. Le cellule saranno coltivate e differenziate *in vitro* usando protocolli appositi. L'effetto dei modulatori verrà saggiato sulle cellule epiteliali nasali usando tecniche elettrofisiologiche. Saranno inoltre effettuate indagini molecolari per riconoscere possibili effetti secondari in grado di alterare l'espressione di CFTR dovuti alle mutazioni.

**Risultati preliminari** - Nel progetto precedente, abbiamo creato una rete di centri FC disposti a caratterizzare i loro pazienti in termini di risposta ai modulatori CFTR. Sono state stabilite colture primarie di cellule epiteliali nasali raccolte da circa 150 pazienti portatori di mutazioni orfane, quali P5L, G85E, R347P, N1303K, I556V, T1036I, G622D, V317A, R1066C, M1V, L1077P. Sono stati identificati modulatori efficaci per oltre il 50% dei pazienti arruolati. Il livello di attività recuperata varia dal 5% all'80% rispetto a quello misurato nelle cellule nasali non-FC. Lo studio ha inoltre evidenziato l'esistenza di mutazioni poco responsive, per le quali è opportuno intraprendere percorsi di ricerca mirati all'ottimizzazione dei modulatori.

**Conclusioni** - Il nostro studio aiuterà nella selezione dei migliori farmaci e nella definizione di un trattamento personalizzato per le persone con FC, comprese quelle con mutazioni rare e ancora non caratterizzate.



Framing the QR code to reach the presentation of the FFC#10/2021 project

## 7. Establishment of conditionally reprogrammed airway epithelial stem cell cultures from nasal epithelia of cystic fibrosis patients: exploring response to CFTR-modulating drugs for correlation with genetic profile (theratyping) and restoring CFTR function through gene editing approaches

Eramo A<sup>1</sup>, Lucarelli M<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Istituto Superiore di Sanità, Dip. di Oncologia e Medicina Molecolare,

<sup>2</sup>Università La Sapienza, Dip. di Medicina Sperimentale (FFC#8/2020, concluded)

**Background and hypothesis** - Cystic fibrosis (CF) transmembrane conductance regulator (CFTR) mutation-specific precision therapy is currently in clinical use for CF. However its effectiveness



Adriana Eramo and Marco Lucarelli

remains unexplored for a large group of rare "orphan" variants, as patients with rare genotypes have scarce access to experimental therapeutics and clinical trials. The Conditionally Reprogrammed Cell (CRC) approach allows expansion of airway epithelial stem cells (AESC) from each CF patient and generation of patient-specific cellular models for evaluation of drug response, thus representing precious *in vitro* tools. Moreover, identification of CFTR pathogenic variants that respond to modulator drugs, approved for other variants, may allow quick clinical translation of personalized therapies for patients with orphan variants.

**Razionale and objectives** - We proposed to: i) expand AESC from nasal epithelia of CF patients with different CFTR gene defects, through the highly efficient CRC methodology; ii) generate AESC-derived disease models *in vitro* of respiratory tissue as ALI-cultures and organoids; iii) test response of different genetic variants to clinical therapeutics (theratyping). The objective was to evaluate response of rare genotypes, with an unknown response to already used modulatory therapies, to Kalydeco, Orkambi, Symkevi and Kaftrio.

**Essential methods** - AESC were used to generate two CF models suitable for CFTR assays: i) Air Liquid Interface (ALI) culture of respiratory cells for CFTR immunoblot, Ussing chamber and fluid reabsorption-assay; ii) organoids for forskolin-induced swelling (FIS).

**Results** - Till now, 37 long-term cultures with 26 different CFTR genotypes have been fully characterized and tested for residual or drug-corrected CFTR activity in ALI-culture based assays and organoids. Limiting to rare genotypes, the effective therapeutic response to Kaftrio has been highlighted for six individual genotypes previously unexplored, 3 of which were object of publication.

**Conclusions** - The possibility to easily perform theratyping in each CF patient, using CRC cultures and organoids, is of great translational impact, with particular relevance for rare CFTR variants. In fact, patients with responsive genotypes for specific drugs could immediately become eligible for treatment, following Regulatory Authorities approval.

## 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 di CFTR e correlazione con il profilo genetico (theratyping) e ripristino della funzione di CFTR mediante approcci di modificazione genica

**Razionale dello studio** - Le terapie paziente-specifiche della fibrosi cistica (FC) sono entrate nella pratica clinica per alcune mutazioni più frequenti del gene causa della patologia (CFTR). Tuttavia, per molte mutazioni rare la risposta a queste terapie non è nota anche a causa della difficoltà di accedere a studi clinici per i pazienti rari. Il nostro gruppo di ricerca ha ottimizzato l'isolamento di cellule staminali "condizionalmente riprogrammate" delle vie aeree dall'epitelio nasale di pazienti con FC (CF-CRC-AESC) e dei relativi organoidi (una versione in miniatura delle vie aeree).

**Ipotesi e obiettivi** - Obiettivo del progetto è stato di genera-

re, dall'epitelio nasale di pazienti FC, cellule staminali respiratorie e da esse due modelli che riproducono il tessuto respiratorio del paziente, adatti per test farmacologici, come le cellule respiratorie differenziate (coltura ALI) e gli organoidi. L'obiettivo è stato quello di valutare la risposta terapeutica ai modulatori Kalydeco, Orkambi, Symkevi e Kaftrio di diverse varianti genetiche rare (orfane) per le quali non sia nota la risposta farmacologica.

**Metodi essenziali** - Le CF-CRC-AESC sono state usate per ottenere due modelli di FC *in vitro*, le colture cosiddette "in interfaccia aria-liquido" (ALI) e gli organoidi, molto adatti per test biochimici e funzionali della proteina CFTR. La risposta terapeutica è stata valutata sia nelle cellule respiratorie sia negli organoidi mediante saggi funzionali e correlata al genotipo di CFTR per predire la risposta terapeutica nel paziente (una procedura nota come *therotyping*).

**Risultati** - Sono state ottenute 37 colture di cellule staminali con 26 diversi genotipi di CFTR, completamente caratterizzate e testate per l'attività del CFTR basale e corretta farmacologicamente nei modelli allestiti di colture ALI e organoidi. Relativamente ai genotipi rari è stata trovata una risposta terapeutica efficace in 6 genotipi la cui risposta farmacologica non era nota. Tre di questi genotipi sono stati oggetto di pubblicazione.

**Conclusioni** - L'approccio usato e gli obiettivi raggiunti in questo progetto costituiscono un prezioso strumento in direzione della terapia personalizzata. La possibilità di ottenere grandi quantità di cellule e organoidi dalle vie aeree superiori di pazienti con FC apre la possibilità di valutare la risposta terapeutica per ciascun genotipo, costituendo un prezioso sostituto *in vitro* di studi clinici, ove questi non siano perseguibili garantendo un più immediato accesso a terapie personalizzate.

## 8. Intestinal organoids for assessment and pharmacological correction of abnormalities in fluid transport and anion currents in patients affected by pancreatitis

Frulloni L<sup>1</sup>, de Jonge H<sup>2</sup>, Lucidi V<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Università degli Studi di Verona, Dip. di Medicina, Div. Gastroenterologia, <sup>2</sup>Erasmus University Medical Center, Dept. of Gastroenterology and Hepatology, Rotterdam (NL), <sup>3</sup>Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Centro Fibrosi Cistica, Roma (FFC#5/2020, concluded)



Luca Frulloni, in the middle, with Vincenzina Lucidi and Hugo de Jonge

**Background and hypothesis** - We hypothesized that patients affected by idiopathic pancreatitis with at least one CFTR mutation (IPC) or phenotyped as CFTR related pancreatitis (CRP) would suffer from a specific defect in CFTR-dependent bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ ) secretion.

**Rationale and objectives of the project** - IPC/CRP patients frequently carry CFTR mutations affecting  $\text{HCO}_3^-$  secretion in pancreatic ducts. Here we used various CFTR *in vivo* and *ex vivo* functional assays for separate measurements of CFTR-mediated chloride ( $\text{Cl}^-$ ) and  $\text{HCO}_3^-$  secretion to investigate whether IPC/CRP-associated CFTR mu-

tations (i) showed a specific defect in  $\text{HCO}_3^-$  rather than  $\text{Cl}^-$  secretion; (ii) could be repaired in part by CFTR modulators, including Kaftrio.

**Methods** - Rectal biopsies and filter-grown colonoid monolayers from IPC/CRP patients were mounted in Ussing chambers and CFTR-mediated  $\text{Cl}^-$  or  $\text{HCO}_3^-$  currents were measured separately (ICM). Chloride transport in sweat glands was measured by GCST and by imaged ratiometric sweat rate test ("bubble" test, BST). Sequencing of CFTR and of genes coding for ion channels expressed in the pancreas were performed by Next Generation Sequencing.

**Results** - ICM in rectal biopsies of 15 out of 22 IPC patients showed abnormally low  $\text{HCO}_3^-$  secretion (values below  $60 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ ; HCs:  $102 \pm 38 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ ). Moreover, two of them (carrying F508del/G58E and F508del/IVS8-(TG)-13T5/T9 variants) also presented defective  $\text{Cl}^-$  secretion ( $<10 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ ). The CFTR activity impairment in these patients was confirmed by BST (mean C/M ratio 0,0; other 20 IPCs:  $0,5 \pm 0,65$ ; HCs:  $0,35 \pm 0,23$ ) and GCST, resulting in their reclassification as having CF. Among 9 out of 24 FC/IPC-derived 2D colonoids analysed so far, 2 showed partial (75-85%) loss of  $\text{Cl}^-$  and  $\text{HCO}_3^-$  currents (S1235R/L206W; D1152H/R553X), but only one (D1152H/R553X) showed a significant reduction in  $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$  current ratio (0,13; HCs:  $0,28 \pm 0,06$ ). In all two mutant colonoids both  $\text{Cl}^-$  and  $\text{HCO}_3^-$  currents were enhanced ~2-fold by Kaftrio.

**Conclusions** - Both rectal biopsies and organoids have found to be suitable tools for separate measurements of CFTR-mediated  $\text{Cl}^-$  vs.  $\text{HCO}_3^-$  currents in Ussing chambers, but only the 2D organoid model is able to measure restoration of these currents by slow acting (>20h) CFTR correctors. Kaftrio was shown to partially restore  $\text{Cl}^-$  and  $\text{HCO}_3^-$  secretion to a similar extent. Only one of the IPC-associated CFTR mutants tested so far, D1152H, showed evidence of an intrinsic change in CFTR anion selectivity. Additional studies measuring electroneutral  $\text{HCO}_3^-$  secretion by the CFTR-regulated colonic  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$  exchanger DRA (SLC26A3) in 2D colonoids from IPC patients are in progress.

## Valutazione e correzione farmacologica delle anomalie nel trasporto di bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) in biopsie intestinali e negli organoidi derivati dai pazienti affetti da pancreatite idiopatica ricorrente (PIC)

**Razionale dello studio** - I pazienti con PIC/PCC portano frequentemente mutazioni del gene CFTR che influenzano la secrezione di  $\text{HCO}_3^-$  nei dotti pancreatici. In questo studio, abbiamo usato test funzionali della proteina CFTR *in vivo* ed *ex vivo* per condurre separatamente le misurazioni della secrezione di cloruro ( $\text{Cl}^-$ ) e bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) mediata da CFTR cercando di individuare un possibile difetto nel trasporto di questi ioni.

**Ipotesi e obiettivi** - Ipotizziamo che i pazienti affetti da pancreatite idiopatica (PI) con almeno una mutazione del gene CFTR o con fenotipo di pancreatite associata a CFTR (PCC) soffrirebbero di un difetto specifico nella secrezione di bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) dipendente dal canale CFTR. Abbiamo indagato se le mutazioni CFTR associate a PIC/PCC (i) mostrassero un difetto specifico nel trasporto di  $\text{HCO}_3^-$  o nella secrezione di  $\text{Cl}^-$ ; (ii) se il funzionamento difettoso del canale potrebbe essere recuperato in parte dai modulatori CFTR, incluso Kaftrio.

**Metodi essenziali** - Biopsie rettali e colonoidi coltivati in filtro, derivati da pazienti reclutati, sono stati montati in camere di Ussing per la misurazione delle correnti di  $\text{Cl}^-$  e  $\text{HCO}_3^-$  mediate da CFTR (ICM). Il trasporto del cloruro nelle ghiandole sudoripare è stato misurato mediante GCST e mediante analisi del tasso di sudorazione effettuato sulle immagini delle gocce di sudore prodotte (bubble test, BST). Il sequenziamento del gene CFTR e dei geni che codificano canali ionici espressi nel pancreas è stato eseguito mediante Next Generation Sequencing.

**Risultati** - ICM condotta sulle biopsie rettali di 15 pazienti su 22 con IPC ha mostrato una anomala secrezione di  $\text{HCO}_3^-$  (valori inferiori a  $60 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ ; HC:  $102 \pm 38 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ ). Inoltre, due di loro (portatori di varianti F508del/G58E e F508del/IVS8-(TG)-13T5/T9) presentavano anche una secrezione di  $\text{Cl}^-$  difettosa ( $<10 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ ).

L'attività compromessa della CFTR in questi pazienti è stata confermata da BST (rapporto medio C/M 0,0; altre 20 IPC:  $0,5 \pm 0,65$ ; HC:  $0,35 \pm 0,23$ ) e GCST, riclassificandoli come pazienti affetti da FC. Nove su 24 colonoidi 2D derivati da CF/IPC sono stati analizzati a oggi, due hanno mostrato una perdita parziale (75-85%) delle correnti di  $\text{Cl}^-$  e  $\text{HCO}_3^-$  (S1235R/L206W; D1152H/R553X), ma solo uno (1152H/R553X) ha mostrato una significativa riduzione del rapporto di corrente  $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$  (0,13; HC:  $0,28 \pm 0,06$ ). In tutti e due i colonoidi mutanti, le correnti associate agli ioni  $\text{Cl}^-$  e  $\text{HCO}_3^-$  sono state potenziate da Kaftrio di circa 2 volte.

**Conclusioni** - Entrambi i modelli usati, biopsie rettali e organoidi, si sono rivelati idonei per la misurazione delle correnti di  $\text{Cl}^-$  e  $\text{HCO}_3^-$  mediate da CFTR su camera di Ussing, ma solo sugli organoidi 2D è stato possibile misurare il recupero di queste correnti dovuta all'azione protratta (>20h) dei correttori della CFTR. Kaftrio ha ripristinato parzialmente la secrezione di  $\text{Cl}^-$  e  $\text{HCO}_3^-$  in modo analogo. Solo uno dei mutanti CFTR associati a PIC testati, D1152H, ha mostrato evidenza di un cambiamento intrinseco nella selettività anionica di CFTR. Sono in corso ulteriori studi che misurano la secrezione elettroneutra di  $\text{HCO}_3^-$  da parte dello scambiatore anionico  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$  del colon DRA (SLC26A3) regolato da CFTR in organoidi 2D da pazienti con PIC.

## 9. Theratyping of rare CFTR genotypes for treatment with CFTR modulators

Melotti P<sup>1</sup>, de Jonge H<sup>2</sup>, Castaldo G<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Centro fibrosi cistica, AOUI Verona, <sup>2</sup>Erasmus University Medical Center, Dept. of Gastroenterology and Hepatology, Rotterdam (NL), <sup>3</sup>CEINGE - Biotecnologie avanzate, Napoli (FFC#9/2020, ongoing)



Paola Melotti, researcher in charge of the project

**Background and hypothesis** - Theratyping allows to investigate the responsiveness of genetic heterogeneity of CFTR mutations to CFTR modulators *in vitro*, using stem cell-based organoids and/or nasal cells to test the feasibility to expand treatment eligibility for people with rare or very rare CFTR variants.

**Rationale and objectives of the project** - This study aims to use two models, intestinal organoids and nasal cells, in single CF patients carrying rare CFTR mutations for proposing and monitoring treatment of CF patients with CFTR variants not yet approved for treatment with CFTR modulators.

**Essential methods** - Measurements of CFTR function were done in CF intestinal organoids (colonoids, from rectal biopsies) and nasal cells (from nasal brushing) to evaluate the efficacy of CFTR modulators (correctors: tezacaftor/lumacaftor/elexacaftor; potentiator: ivacaftor; read-through molecules: ELX-02/PTC-124) in 3D (FIS assay) and/or 2D (Ussing chambers) in rare CFTR genotypes. For nonsense

and splicing variants we evaluated the presence of CFTR mRNA, the pharmacological target of read-through molecules, prior to evaluating the possible effects of correctors and potentiators. Patients at the Cystic Fibrosis Center of Verona and Ospedale Bambin Gesù in Rome have been enrolled.

**Results** - Colonoids with at least one nonsense CFTR variant, after incubation with PTC-124 alone, showed no significant effects, but the further addition of ivacaftor increased their chloride secretion by 2-fold and 2,3-fold respectively. Preliminary data were collected on rare CFTR genotypes including intronic variants, exons deletions, missense intronic insertions by testing colonoids with combinations of tezacaftor, lumacaftor, elexacaftor and ivacaftor; with significant CFTR function recovery (up to 4-fold of increase). Similar preliminary results about CFTR mRNA and CFTR function in Ussing chambers were obtained in both nasal cells and colonoids for two patients with specific limits/advantages of the two different models.

**Conclusions** - Our data suggest both nasal cells and colonoids as promising *in vitro* tools for predicting CF patient's response to drugs and might provide support for pharmacological targeting of rare CFTR genotypes. We are working on submission of scientific publications of these findings that might provide support for authorization of treatment of CF patients with CFTR modulators.

## Terapia di genotipi CFTR rari per il trattamento con modulatori CFTR

**Razionale dello studio** - La valutazione della risposta delle diverse varianti genetiche CFTR ai modulatori CFTR *in vitro*, usando cellule nasali e/o organoidi intestinali sviluppati da cellule staminali, fornisce la possibilità di ampliare l'idoneità al trattamento per i pazienti con varianti CFTR rare o ultrarare.

**Ipotesi e obiettivi** - Usando i riscontri di entrambi i modelli, organoidi intestinali (colonoidi) e cellule nasali, di singoli pazienti CF portatori di rare mutazioni CFTR si propone il loro trattamento e monitoraggio essendo le loro varianti CFTR non ancora approvate per il trattamento con modulatori CFTR. Vengono effettuate misurazioni della funzione CFTR nei colonoidi (da biopsie rettali) e nelle cellule nasali (da spazzolamento nasale) per valutare l'efficacia dei modulatori CFTR (correttori: tezacaftor/lumacaftor/elexacaftor; potenziatore: ivacaftor; correttori post-trascrizionali: ELX-02/PTC-124) in 3D (saggio FIS) in genotipi rari di CFTR. Per le varianti "stop-prematuro" e "splicing" valutiamo la presenza dell'mRNA di CFTR, bersaglio farmacologico delle molecole correttive di "stop-prematuro", necessario anche per i possibili effetti di correttori e potenziatori. Sono stati arruolati i pazienti del Centro Fibrosi Cistica di Verona e dell'Ospedale Bambin Gesù di Roma.

**Risultati** - Colonoidi con almeno una variante CFTR "stop-prematuro" incubati con il solo PTC-124 non hanno mostrato effetti significativi, mentre l'aggiunta di ivacaftor ha aumentato la loro secrezione di cloruro di 2 volte e 2,3 volte rispettivamente. Sono stati raccolti dati preliminari su genotipi CFTR rari (varianti introniche, delezioni di esoni, varianti "missenso" e "stop prematuro") testando i colonoidi con combinazioni di tezacaftor, lumacaftor, elexacaftor e ivacaftor; con un significativo recupero della funzione CFTR (fino a 4 volte di aumento). Risultati preliminari simili di sono stati ottenuti sia nelle cellule nasali che nei colonoidi (mRNA e funzione di CFTR) per due pazienti con limiti/vantaggi specifici dei due diversi modelli potenzialmente complementari.

**Conclusioni** - Sia le cellule nasali sia i colonoidi potrebbero fornire dati utili per prevedere la risposta dei pazienti FC ai farmaci e quindi essere di supporto per l'intervento farmacologico classico su CFTR in genotipi rari per i quali sono impossibili gli studi sperimentali classici. Le pubblicazioni scientifiche di questi risultati potrebbero favorire l'autorizzazione del trattamento con modulatori CFTR di questi pazienti.

## 10. Small nitrogen heterocycles as correctors of the mutant CFTR protein in cystic fibrosis

Venturini A<sup>1</sup>, Renda M<sup>1</sup>, Guidone D<sup>1</sup>, Spanò V<sup>2</sup>, Barreca M<sup>2</sup>, Genovese M<sup>1</sup>, Raimondi MV<sup>2</sup>, Montalbano A<sup>2</sup>, Galietta LJV<sup>1</sup>, Barraja P<sup>2</sup>

<sup>2</sup>Department of Sciences and Chemical Biology and Pharmaceutical Technology (STEBICEF), University of Palermo, <sup>1</sup>Telethon Institute of Genetics and Medicine (TIGEM), Pozzuoli (NA) (FFC#3/2020, ongoing)



Paola Barraja, second from the right, and her collaborators

**Background and rationale** - Pharmacological correction of mutant CFTR defects is an effective therapeutic strategy for cystic fibrosis (CF). Combinations of correctors with complementary mechanisms can be used to treat the folding and stability CFTR defects caused by F508del mutation. Our initial efforts led to the identification of a class of new compounds with high efficacy in the rescue of F508del-CFTR on native epithelial cells of CF patients particularly in combination with class 1 correctors (VX-809, i.e. lumacaftor).

**Hypothesis and objectives** - Our synthesis of nearly 300 compounds (PP) has provided useful information about the structure-activity relationship of these molecules as CFTR correctors. Our goal is to use this information to generate new compounds with improved potency/efficacy and enhanced aqueous solubility, a critical issue emerged from previous ADME properties evaluation. We also plan to study the mechanism of action of our compounds guided by the hypothesis that they directly act on CFTR protein.

**Essential methods** - All new synthesized compounds are initially tested as correctors with the HS-YFP functional assay on cells with stable expression of mutant CFTR. The most active compounds are then validated: i) in short-circuit recordings on primary airway epithelial cells (bronchial and/or nasal); ii) in biochemical and microscopy assays to evaluate CFTR maturation and trafficking. To study corrector site of action, cells will be transfected with constructs corresponding to different CFTR domains and then treated with test compounds. Immunoblot experiments will then indicate which constructs are stabilized by compound treatment.

**Results** - The work done so far, based on iterative cycles of chemical synthesis, evaluation of corrector activity and insight on the mechanism indicate that PP compounds are highly effective in the rescue of F508del-CFTR with synergistic effect when combined with class 1 and 2 correctors but not with class 3 thus leading to the hypothesis that they could belong to this class of correctors. ADME profiling of few compounds indicated the need of an improvement of water solubility, which was approached by 1) introduction of hydrogen bond donors and acceptors in different regions of the scaffold and 2) a scaffold hopping strategy leading to new compounds. A reduction of the calculated lipophilic character (LogP) was achieved, maintaining in some cases potency and efficacy confirming the synergistic effect which proves to be the most promising feature of the class.

**Conclusions** - We have identified novel CFTR correctors, which appear promising for the future development of combinatorial

treatments for CF patients. Iterative cycles of chemical synthesis, evaluation of corrector activity and ADME/Tox properties are needed to improve potency and drug likeness. The final goal is to develop an optimized lead compound that could be considered for preclinical and clinical development.

## Verso l'identificazione di nuovi correttori basati su sistemi eterociclici azotati

**Background e rationale** - La correzione farmacologica del difetto causato da mutazioni della proteina CFTR è una strategia efficace per il trattamento della fibrosi cistica (FC). L'uso di combinazioni di correttori con meccanismi d'azione complementari è efficace nel trattamento di difetti di stabilità e ripiegamento causati dalla mutazione F508del. I nostri studi hanno portato all'identificazione di una nuova classe di composti altamente efficaci nel recupero funzionale della proteina F508del-CFTR anche in cellule epiteliali primarie di pazienti FC, soprattutto in combinazione con correttori di classe 1 (VX-809, i.e. lumacaftor).

**Ipotesi e obiettivi** - La sintesi di quasi 300 analoghi (PP), ha fornito utili informazioni sulle caratteristiche strutturali che tali composti devono avere per funzionare da correttori. Questi dati serviranno per guidare la sintesi di nuovi composti ulteriormente migliorati dal punto di vista dell'efficacia e potenza. Prevediamo inoltre di studiare il meccanismo di azione dei nostri composti, guidati dall'ipotesi che essi agiscano direttamente sulla proteina CFTR.

**Metodi essenziali** - I nuovi composti saranno saggiati come correttori usando un veloce test funzionale su cellule con espressione stabile della proteina CFTR mutata. I derivati più potenti saranno validati attraverso: i) test funzionali su cellule epiteliali di pazienti FC; ii) analisi al microscopio e saggi biochimici per valutare l'effetto sulla maturazione e trasporto della proteina mutata.

**Risultati** - Il nostro lavoro, basato su cicli ripetuti di sintesi, valutazione dell'attività e del meccanismo d'azione, indica un progressivo miglioramento dell'attività correttiva dei nostri composti, che mostrano un forte effetto sinergico se combinati con correttori già conosciuti. Studi *in vitro* delle potenziali proprietà ADME (assorbimento, distribuzione, metabolismo, escrezione), hanno evidenziato la necessità di migliorare la solubilità in acqua. A questo scopo sono state introdotte delle modifiche strutturali che mantenendo l'attività dei composti, ne hanno migliorato la solubilità calcolata.

**Conclusioni** - Abbiamo identificato una nuova classe di correttori che probabilmente agiscono su un nuovo sito della proteina CFTR e che risultano promettenti per lo sviluppo di nuovi trattamenti combinatori in pazienti FC. Saranno necessari ulteriori cicli di sintesi, valutazione dell'attività correttiva e delle proprietà ADME per ottenere un buon candidato per un possibile sviluppo preclinico e clinico.

## 11. Harnessing CRISPR/Cas technology to revert F508del-CFTR defect

Maule G<sup>1</sup>, Amistadi S<sup>1</sup>, Carrozzo I<sup>1,2</sup>, Aiello D<sup>1,2</sup>, Arosio D<sup>2</sup>, Cereseto A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Università di Trento, Dipartimento di Biologia Integrata Computazionale Cellulare (CIBIO), Trento, <sup>2</sup>Consiglio Nazionale delle Ricerche CNR, Istituto di Biofisica, Trento (FFC#3/2019, concluded – FFC#2/2021, new)

**Background and rationale** - Fast advancement of CRISPR tools for genome editing offers new opportunities to repair genetic defects. The newly developed CRISPR base-editors (BE) and prime-editors (PE) belong to a safer generation of CRISPR tools which allow genome manipulation without generating DNA double strand breaks. Yet while BE and PE are exploitable approaches to revert point mu-



Anna Cereseto, first from left, and Daniele Arosio, first from right, and the CIBIO research group at Trento University

tations, including those altering CFTR splicing in cystic fibrosis (CF), hurdles remain to repair small deletions, such as the most common trinucleotide deletion, F508del.

**Hypothesis and objectives** - F508del and 2789+5G>A fall into the group of the most frequent CF mutations. Even though these are very distant types of genetic alterations diversely affecting CFTR, both cannot be directly corrected using conventional gene-editing techniques. Our main objective is the exploitation of BE and PE technology (i) to introduce F508del neutralizing mutations as alternative to low efficient reported HDR or PE and (ii) to repair the 2789+5G>A splicing mutation as an alternative to the correction by CRISPR cleavage.

**Results** - The F508del neutralization mutations reported in literature have been introduced by CRISPR base editing approach and proven valid to partially reverse the mutated CF phenotype. To overcome the technical limitations imposed by the simultaneous introduction multiple mutations we are screening a library of randomly mutated CFTR and will apply a directed evolution system, *EvoIR*, that we have recently developed to identify novel neutralizing mutations. The base- and prime-editing approaches were applied to reverse the 2789+5G>A splicing mutation in primary cells and organoids. The CFTR activity was measured by conventional techniques and through the novel fluorescent biosensor, *ClopHensor*, measuring the chloride fluxes at the plasma membrane.

## Uso di tecnologie CRISPR-Cas per revertire gli effetti delle mutazioni F508del e 2789+5G>A del gene CFTR

**Background e razionale** - La tecnologia CRISPR-Cas ha permesso di portare grandi sviluppi nel campo della terapia genica offrendo soluzioni efficaci e precise per la correzione di mutazioni genetiche quali quelle che alterano il funzionamento del gene CFTR nella fibrosi cistica. Gli ultimi avanzamenti tecnologici hanno ulteriormente perfezionato i sistemi CRISPR permettendo di modificare esclusivamente un singolo nucleotide, collegando Cas9 con un enzima deaminasi (*base editor*) o trascrittasi inversa (*prime editor*). La forma più diffusa di fibrosi cistica è causata dalla perdita dell'amminoacido fenilalanina nella posizione 508 della proteina CFTR (F508del). Altre mutazioni come quelle che alterano lo *splicing* sono meno frequenti ma impattanti per i pazienti in quanto non trattabili con terapie farmacologiche.

**Ipotesi e obiettivi** - Con questo progetto proponiamo di ripristinare la funzione del gene con mutazioni F508del e 2789+5G>A usando le tecnologie più avanzate di *editing* genomico. Ci proponiamo di ripristinare il corretto funzionamento di F508del-CFTR, mediante un nuovo approccio che sfrutta l'esistenza di mutazioni neutralizzanti.

**Risultati** - È stato osservato che i difetti di *folding* e *trafficking* causati da F508del possono essere in parte corretti da ulteriori mutazioni puntiformi nel gene CFTR, dette neutralizzanti. La mutazione di *splicing* 2789+5G>A che fa parte delle 20 mutazioni di *splicing* più frequenti tra le 360 identificate come causa di fibrosi cistica verrà riparata seguendo la strategia usata nel nostro studio precedente e sfruttando le nuove tecnologie di *base editor* e *prime editor*. Le modifiche terapeutiche verranno inserite in modelli

cellulari di fibrosi cistica (cellule epiteliali bronchiali e organoidi intestinali derivati da pazienti) in cui saranno presenti le mutazioni F508del o 2789+5G>A tramite tecnologie CRISPR-Cas. Con il presente progetto ci proponiamo di mettere a punto nuove strategie per la cura della fibrosi cistica tramite terapia genica.



Framing the QR code to reach the presentation of the FFC#2/2021 project

## 12. Validation of the distribution and activity of new optimized leads in mouse model and other CF model systems

Lentini L<sup>1</sup>, Pace A<sup>2</sup>, Tutone M<sup>2</sup>, Perriera R<sup>1</sup>, Corrao F<sup>1</sup>, Fiduccia I<sup>2</sup>, Carlon M<sup>3</sup>, Vermeulen F<sup>3</sup>, Melfi R<sup>1</sup>, Zizzo MG<sup>1</sup>, Pibiri I<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Biological, Chemical and Pharmaceutical Sciences and Technologies (STEBICEF) Cellular biology section and <sup>2</sup>Chemistry section, University of Palermo, <sup>3</sup>Laboratory for Molecular Virology and Gene Therapy, Department of Pharmaceutical and Pharmacological Sciences, KU Leuven (BE), (FFC#6/2020, ongoing)



Laura Lentini and Ivana Pibiri, in the middle, and their research group

**Background and hypothesis** - Among the mutations of the Cystic Fibrosis Transconductance Regulator (CFTR) gene, causing cystic fibrosis (CF), nonsense mutations are the second most diffuse mutations. A proposed approach restoring the nonsense mutated CFTR gene is translational readthrough of premature termination codons (PTCs) by Translational Read-Through-Inducing Drugs (TRIDs). By computational and biological screening, we identified three new small molecules showing high readthrough activity. Based on the results of the project FFC#3/2017 we hypothesize that: 1) the efficacy of TRIDs observed *in vitro* is reproducible *in vivo*; 2) the CFTR protein produced after the readthrough recovers its functionality; 3) the MOA could involve an interaction with the mRNA mismatching the stop and favoring interaction with t-RNA directly or indirectly.

**Razionale and objectives of the project** - The main scope of this project is to assess the drug toxicity and the biodistribution *in vivo*, to evaluate CFTR expression and functionality after treatment with our studied TRIDs *in vivo*, and support the hypothesized MOA.

**Essential methods** - A. Scale up of the synthesis to obtain adequate amounts of the selected TRIDs. B. Study of the drugs metabolism in human liver microsomes and study of the biodistribution in a wild type mouse model. C. Analysis of CFTR expression (by Western blot and Real time RT-PCR) and functionality after treatment with proposed TRIDs in CFTRG542X stop mouse model and in human CF intestinal organoids carrying nonsense CFTR mutations. D. Computational evaluation of the TRIDs biological targets and MOA by molecular docking analysis.

**Preliminary results** - Our studies performed on human liver

microsomes, showed a good metabolic stability of NV848 molecule. Moreover, preliminary histological analyses performed on different organs of the treated mice show that no deleterious effects were identified in acute toxicity experiments.

**Conclusions** - Our findings have translational potential and they will provide the validation of molecules with readthrough activity for the rescue of the CFTR function.

### Valutazione della distribuzione e dell'attività di nuove molecole ad azione *readthrough* nel modello di topo e in altri sistemi modello di FC

**Razionale dello studio** - Le mutazioni stop rappresentano il secondo tipo di mutazione più frequente del gene CFTR. Sono delle mutazioni associate a un fenotipo severo della malattia, in quanto comportano la completa assenza della proteina canale del cloro. Tali mutazioni sono responsabili della formazione dei così detti "codoni di stop prematuri", che in condizioni normali determinano la fine della produzione di una proteina; in questo caso, invece, si trovano in una regione scorretta dell'mRNA. Ciò comporta l'interruzione della sintesi della proteina e la produzione di una proteina tronca, non funzionale. Un approccio terapeutico per questo tipo di mutazione è rappresentato dal *readthrough*, cioè il "superamento" del codone di stop prematuro, un meccanismo che consente di portare a termine la sintesi di una proteina completa. Questo è reso possibile da composti noti come TRIDs (*Translational Readthrough Inducing Drugs*).

**Ipotesi e obiettivi** - Nel nostro precedente progetto (FFC#3/2017) siamo riusciti a identificare tre molecole che presentano elevata attività *readthrough*. Tali molecole hanno mostrato una bassa tossicità sia *in vitro* sia *in vivo* (modello zebrafish). Scopo di questo progetto è quello di valutarne l'efficacia in un nuovo modello di topo transgenico, con mutazione stop CFTR UGA stop. Inoltre, ci si propone di studiare la stabilità su sistemi che mimano l'attività epatica umana *in vitro* e la bio-distribuzione *in vivo* dei composti. Infine, ulteriore obiettivo sarà quello di studiarne in modo approfondito il meccanismo d'azione (MOA).

**Metodi essenziali** - Ceppi di topi *wild type* sono stati usati per lo studio di tossicità acuta delle tre molecole NV848, NV914, NV930. Gli stessi verranno anche usati per la valutazione della bio-distribuzione dei TRIDs *in vivo*. Valuteremo l'espressione del CFTR in un sistema modello murino CFTR UGA stop dopo il trattamento con tre TRIDs e stimeremo l'attività delle nuove molecole in organoidi umani intestinali con mutazioni stop del gene CFTR. Il target biologico viene studiato mediante approcci computazionali.

**Disegno dello studio** - Lo studio è volto all'estensione dei dati ottenuti *in vitro* nel nostro lavoro precedente, al fine di valutare se i sistemi modello di fibrosi cistica, quali il modello di topo CFTR UGA stop e gli organoidi umani da pazienti affetti da FC con mutazioni stop, rispondono in maniera simile a quanto già osservato *in vitro*. Oltre alla più approfondita comprensione del meccanismo d'azione e target biologico delle molecole TRIDs.

**Risultati preliminari** - I risultati ottenuti in via preliminare hanno mostrato una buona prospettiva per la prosecuzione dello studio: le molecole analizzate infatti risultano avere una buona stabilità.

**Conclusioni** - I risultati che otterremo da questo studio avranno un forte potenziale traslazionale e forniranno la convalida di molecole con attività di *readthrough* per il ripristino della funzione CFTR.

### 13. Peptide-nucleic acids as potential CFTR amplifier molecules for cystic fibrosis treatment

Zollo I<sup>1,2</sup>, Scialò F<sup>2,3</sup>, Cernerà G<sup>1,2</sup>, Di Lullo A<sup>4</sup>, Oliviero G<sup>1</sup>, Amato F<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università di Napoli Federico II, Napoli, <sup>2</sup>CEINGE - Biotecnologie Avanzate, Napoli, <sup>3</sup>Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, Università della Campania "Luigi Vanvitelli" Napoli, <sup>4</sup>Dipartimento di Neuroscienze CRISPR/Cas9 e Scienze riproduttive ed odontostomatologiche, Università di Napoli Federico II (FFC#1/2020, ongoing)



Felice Amato, third from right, and his research group at CEINGE-Biotecnologie Avanzate, Napoli

**Razionale** - Cystic fibrosis (CF) is caused by CFTR protein malfunction. Nowadays, we know that different types of mutations can affect CFTR in many ways since they can influence its production, folding or gating, resulting in various degrees of residual protein activity. The pharmacological treatment available today involves the use of correctors and/or potentiators that can improve CFTR folding or activity. Unfortunately, only patients with specific classes of mutations can benefit from these treatments. Therefore, it is mandatory to pursue the search for new drugs, which alone or in combination with existing ones, can cure/treat all CF patients regardless of the type of mutation.

**Hypothesis and goals** - In addition to the existing therapies, aimed at improving CFTR function by using correctors and/or potentiators, we could develop alternative strategies designed to increase the quantity of CFTR protein. In other words, we would compensate for a reduced activity by increasing the amount of protein present on the membrane. Therefore, we are developing new compounds, amplifiers, that can act on both DNA or RNA molecules, increasing the production of CFTR protein in the cell. Thus, to increase the amount of CFTR protein we will develop: 1) Peptides nucleic acids (PNA), 2) or analogs 3) and transcriptional activation system based on the use of modified CRISPR/Cas9. Furthermore, we aim to develop new approaches for the delivery of these molecules in polarized nasal cells obtained from healthy and cystic fibrosis patients.

**Methods** - Design and synthesis of PNA and/or PNA analogs. Development of biodegradable nanoparticles for their delivery into cellular models. Design and production of plasmids for the expression of CRISPR/Cas9 systems

**Preliminary results** - The main results of the study were: 1) the development of nanoparticles to deliver PNA molecules in polarized nasal cells. 2) production of a single plasmid for the expression of all necessary components for the activation and/or increase of CFTR transcription through a modified Cas9.

**Conclusion** - Our results demonstrate that PLGA nanoparticles can reach the nasal epithelium cells by crossing the mucus barrier, one of the main obstacles to aerosol therapy. Therefore, we believe that this type of vehicle can be a valid means for the administration of any PNA-based therapies and can also be used for other types of formulations.

### Acidi nucleici peptidici come potenziali amplificatori di CFTR per il trattamento della fibrosi cistica

**Razionale dello studio** - La fibrosi cistica è causata dal mal-funzionamento della proteina CFTR. Sappiamo che a seconda dei tipi di mutazioni possiamo avere problemi nella forma e/o funzionamento della proteina, con una attività residua variabile. I farmaci oggi disponibili come i correttori e potenziatori agiscono sulla proteina CFTR aiutandola a prendere la giusta forma o a funzionare meglio e di più. Sfortunatamente però, questi farmaci si possono applicare solo a pazienti con particolari mutazioni. È per questo che bisogna continuare a ricercare nuovi farmaci che, da soli o in combinazione con quelli già esistenti, possano curare/trattare tutte le persone con CF a prescindere dal tipo di mutazione.

**Ipotesi e obiettivi** - Oltre a migliorare la forma e la funzione, con correttori e potenziatori si potrebbe intervenire anche sulla quantità della proteina stessa. Infatti, è lecito pensare di compensare la diminuita attività della proteina con un aumento della sua quantità. A questo scopo, sono allo studio dei composti, chiamati amplificatori, che agendo sul DNA o RNA riescono a far produrre dalle nostre cellule più proteina. L'obiettivo di questo progetto è cercare di aumentare la quantità di proteina CFTR usando: 1) acidi nucleici peptidici (PNA), 2) analoghi di PNA, 3) sistemi di attivazione trascrizionale basati su CRISPR/Cas9. Inoltre, tra gli obiettivi del progetto c'è quello di testare sistemi per veicolare queste molecole all'interno delle cellule, usando un particolare modello cellulare basato su cellule nasali prelevate da soggetti sani e pazienti FC.

**Metodi essenziali** - progettazione e sintesi di PNA e/o analoghi di PNA e loro caricamento in nanoparticelle biodegradabili per la veicolazione in modelli cellulari. Progettazione e produzione di plasmidi per l'espressione di sistemi CRISPR/Cas9.

**Risultati preliminari** - I risultati principali dello studio sono stati: 1) lo sviluppo di nanoparticelle per veicolare molecole di PNA in cellule nasali polarizzate; 2) costruzione di un plasmide unico per l'espressione di tutte le componenti necessarie all'attivazione e/o aumento della trascrizione del gene CFTR tramite una particolare Cas9 modificata.

**Conclusioni** - Dai risultati ottenuti è dimostrato che le nanoparticelle (di PLGA) sono capaci di raggiungere le cellule dell'epitelio nasale attraversando la barriera di muco, uno dei principali ostacoli alle terapie via aerosol. Confidiamo quindi che questo tipo di veicolo possa essere un valido mezzo per la somministrazione di eventuali terapie basate su PNA e che possa essere usato anche per altri tipi di formulazioni.

## 14. Antimicrobial peptides from amphibian skin for treatment of lung pathology in cystic fibrosis: advanced *in vitro* and *in vivo* functional characterization

Mangoni ML

Università La Sapienza Roma, Dip. di Scienze Biochimiche, Lab. di Peptidi Bioattivi (FFC#8/2019, concluded)



Maria Luisa Mangoni

**Background and hypothesis** - Mutations in the cystic fibrosis (CF) transmembrane conductance regulator (CFTR) lead to persistent lung bacterial infections, mainly due to the bacterium *Pseudomonas aeruginosa*, with loss of respiratory function and death. The most prevalent mutation is the loss of phenylalanine 508 (F508del-CFTR) which causes an incorrectly folded protein that is rapidly degraded and exhibits a defect channel gating. Unfortunately, even in the era of CFTR modulation therapies, management of pulmonary infections in CF remains highly challenging, mostly for patients with advanced stages of lung disease. In the last years, we identified a short-sized antimicrobial peptide (AMP) from frog skin, Esc(1-21), which rapidly kills *P. aeruginosa* with a membrane-perturbing activ-

ity that prevents bacteria from developing resistance. Furthermore, a diastereomer of Esc(1-21) was found to be more efficient in restoring bronchial epithelium integrity *in vitro* and in reducing lung bacterial burden in murine models of *P. aeruginosa* lung infection, upon intra-tracheal (*i.t.*) instillation, especially when encapsulated into polymeric nanoparticles (NPs).

**Objectives** - The project basically aimed at (i) studying the effect of the two Esc peptides on the ion currents mediated by F508del-CFTR; (ii) evaluating the clinical potential of Esc peptides-loaded polymeric NPs by determining their pulmonary safety profile and host response upon *i.t.* administration in mice.

**Essential methods** - A multidisciplinary approach combining electrophysiological, biochemical, cell biology and computational methods, as well as healthy mice for *in vivo* studies was used.

**Results** - We demonstrated that both Esc peptides are able (i) to increase the CFTR-dependent transepithelial electrical conductance in immortalized cell lines expressing F508del-CFTR by direct interaction with the mutated protein and (ii) to evoke a significant increase of chloride ions current in primary bronchial epithelial cells homozygous for the F508del mutation, by promoting the channel activity. This effect is comparable to that of genistein and closely related to the primary structure of Esc peptides, being more pronounced for the diastereomer carrying a phosphorylated D-Serine at position 17. Remarkably, such potentiator activity of CFTR was not explored previously with any AMPs or peptides in general. In addition, we discovered that Esc peptides and polyvinyl alcohol-engineered poly(lactic-co-glycolic) acid NPs do not alter the number of lung inflammatory cells in healthy mice or the global expression of lung epithelial genes 24 h after *i.t.* instillation, in contrast with the significant genetic changes provoked by administration of the last resort antibiotic colistin.

**Conclusions** - The results of our studies indicated that unlike clinically used CFTR modulators, Esc peptides would give particular benefit to CF patients by combining their capability to treat lung infections and to promote airway epithelial wound repair with the ability to ameliorate the activity of the channel with conductance defects. This can open the avenue for a new up-and-coming pharmacological approach, likely based on inhalable peptide-loaded NPs, to address CF lung disease.

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

**Razionale dello studio** - Mutazioni del canale della conduttanza transmembrana della fibrosi cistica (CFTR) inducono l'insorgenza di infezioni polmonari persistenti, principalmente legate al batterio *Pseudomonas aeruginosa*, con compromissione della funzione respiratoria e morte dell'individuo stesso. La mutazione più prevalente in FC è la perdita di fenilalanina 508 (F508del-CFTR) con produzione di una proteina canale mal ripiegata e con un difetto di apertura (*gating*). Sfortunatamente, anche nell'era delle terapie a base di modulatori di CFTR, il trattamento delle infezioni polmonari nella fibrosi cistica resta una grande sfida, principalmente per i pazienti con stadi avanzati di malattia polmonare. Negli ultimi anni, abbiamo identificato un peptide antimicrobico (AMP) da pelle di rana, l'Esc(1-21), che uccide rapidamente *P. aeruginosa* e il suo biofilm con un meccanismo di perturbazione di membrana che impedisce ai batteri di sviluppare resistenza. Inoltre, un diastereoisomero di Esc(1-21) è risultato più efficiente nel ripristinare l'integrità dell'epitelio bronchiale *in vitro* e nel ridurre la carica batterica in modelli murini di infezione polmonare da *P. aeruginosa* in seguito a una singola instillazione intra-tracheale (*it*), soprattutto se incorporato in nanoparticelle (NP) polimeriche.

**Ipotesi e obiettivi** - Scopo principale del progetto è stato quello di (i) studiare l'effetto dei due peptidi Esc sulle correnti ioniche determinate da F508del-CFTR; (ii) valutare il potenziale impiego in campo clinico di NP polimeriche contenenti i peptidi Esc, andando a studiare il loro profilo di sicurezza a livello polmonare e la risposta dell'ospite in seguito a somministrazione *i.t.* in topi sani.



**Metodi essenziali** - È stato usato un approccio multidisciplinare che combina metodi elettrofisiologici, biochimici, di biologia cellulare e computazionali, nonché topi sani per studi *in vivo*.

**Risultati** - Abbiamo dimostrato che entrambi i peptidi Esc sono in grado (i) di aumentare la conduttanza transepiteliale dipendente da CFTR in linee cellulari che esprimono F508del-CFTR in seguito a una diretta interazione con la proteina mutata e (ii) di evocare un significativo aumento di corrente di ioni cloruro in cellule bronchiali primarie omozigoti per la stessa mutazione, promuovendo l'attivazione del canale. Questo effetto è paragonabile a quello indotto dal potenziatore genisteina; è correlato alla struttura primaria dei peptidi Esc ed è più pronunciato per il diastereoisomero contenente una D-serina fosforilata in posizione 17. È importante sottolineare come tale attività potenziatrice di CFTR non sia stata esplorata in precedenza per alcun AMP o peptidi in generale. Inoltre, abbiamo scoperto come i peptidi Esc e le NP di acido poli(lattico-co-glicolico) ingegnerizzate con alcol polivinilico non sono in grado di causare alcuna variazione del numero di cellule infiammatorie nel polmone di topi sani o la variazione dell'espressione globale di geni dell'epitelio polmonare, 24 ore dopo instillazione i.t., contrariamente alla significativa alterazione di espressione genica provocata dalla somministrazione dell'antibiotico di ultima scelta, quale la colistina.

**Conclusioni** - I risultati dei nostri studi hanno suggerito che, a differenza dei modulatori CFTR usati clinicamente, i peptidi Esc potrebbero conferire particolare beneficio ai pazienti FC combinando la loro capacità di debellare le infezioni polmonari e di promuovere la guarigione di lesioni epiteliali delle vie aeree con la capacità di migliorare l'attività del canale CFTR con difetti di conduttanza. Tutto ciò può aprire la strada a un nuovo approccio farmacologico basato sull'impiego di NP inalabili contenenti peptidi per il trattamento della patologia polmonare della FC.

## 15. Lipid-based therapeutic strategies to optimize the effectiveness of innovative drugs to rescue F508del-CFTR

Tamanini A<sup>1</sup>, Roberto N<sup>2</sup>, Dobi D<sup>2</sup>, Bassi R<sup>2</sup>, Mauri L<sup>2</sup>, Dehecchi MC<sup>4</sup>, Olioso D<sup>4</sup>, Tedesco E<sup>1</sup>, Lippi G<sup>4</sup>, Pedemonte N<sup>3</sup>, Cabrini G<sup>4,5</sup>, Aureli M<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sezione di Patologia Molecolare, UOC Laboratorio Analisi (Sede di Borgo Trento), Dipartimento di Patologia e Diagnostica, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona, <sup>2</sup>Dipartimento di Biotecnologie Mediche e Medicina Traslazionale, Università degli Studi di Milano, <sup>3</sup>U.O.C. Genetica Medica, Istituto Giannina Gaslini, Genova, <sup>4</sup>Dipartimento di Neuroscienze Biomedicina e Movimento, Università degli Studi di Verona, <sup>5</sup>Centro di Ricerca sulle Terapie Innovative per la Fibrosi Cistica, Dipartimento Scienze della Vita e Biotecnologie, Università degli Studi di Ferrara (FFC#2/2020, ongoing)



Massimo Aureli, in the middle, responsible of the project. In the lower picture, the research partner Anna Tamanini (second from the right)

**Background and hypothesis** - The novel combination of correctors and potentiators showed high efficacy in the rescue of F508del-CFTR but the half-life of the protein is reduced especially upon the infection with *Pseudomonas aeruginosa*. Thanks to previous project FFC#02/2018, an association between PM levels of the monosialoganglioside GM1 and CFTR expression has been observed, suggesting an involvement of GM1 in CFTR stabilization, also in presence of *P. aeruginosa* infection.

**Rationale and objectives of the project** - The aim of this project is to investigate the role of GM1 or its derivative, or cholesterol or  $\beta$ -sitosterol on the effectiveness of new combination Kaftrio on rescued F508del-CFTR expression and activity, also in the presence of *P. aeruginosa*.

**Essential methods** - CF-relevant immortalized bronchial epithelial cells were fed with exogenous GM1, or with its lyso-derivative LIGA20 and treated with the Kaftrio. The effects of the treatments were analyzed in terms of sphingolipid pattern, exploiting the use of cell labelling with radioactive sphingosine, and PM stability and expression of mutated CFTR rescued by Kaftrio also in presence of *P. aeruginosa*.

**Results** - Exogenous administration of GM1 reduces the destabilizing effects of VX-770 (i.e. ivacaftor) on rescued mutated CFTR in terms of expression and function, whereas the use of LIGA20 does not seem to have effects. When cells are treated with Kaftrio the destabilizing effect of VX-770 is limited. Therefore, we investigated the effect of the triple combination on the sphingolipid composition and we found that in treated cells the content of the GM1 and GD1a is increased. These changes are mainly due to a promotion in the activity of the sialyl-transferase and to the inhibition of the sialidase, two key enzymes involved in the ganglioside metabolism. Nevertheless, we found that the expression of mutated CFTR rescued by Kaftrio is reduced upon infection with *P. aeruginosa* of bronchial epithelial cells. We will investigate the effects of GM1 on the expression and stability of rescued mutated CFTR after *P. aeruginosa* infection.

**Conclusions** - There are several ongoing clinical trials investigating the therapeutic potential of GM1 in other diseases. Therefore, based on these data, the co-administration of GM1, correctors and potentiators could be considered as an innovative strategy to ameliorate the effectiveness of the modulators on the plasma membrane stability of mutated CFTR.

## Strategie terapeutiche basate sui lipidi per ottimizzare l'efficacia dei farmaci innovativi per la cura della fibrosi cistica

**Razionale dello studio** - Gli sfingolipidi giocano un ruolo chiave nello stabilizzare e reclutare specifici pool di proteine funzionali in ristretti microdomini della membrana plasmatica. Kaftrio mostra un'elevata efficacia nel recupero di F508del-CFTR, anche se la vita media della proteina risulta breve, specialmente dopo infezione con *P. aeruginosa*. Grazie al progetto precedente FFC#2/2018, è stata osservata un'associazione tra i livelli del monosialoganglioside GM1 sulla membrana plasmatica e l'espressione di CFTR, suggerendo un coinvolgimento di GM1 nella stabilizzazione di CFTR, anche in presenza di *P. aeruginosa*.

**Ipotesi e obiettivi** - Il progetto intende indagare se la somministrazione esogena del ganglioside GM1 e del colesterolo o dei suoi derivati, deficitari nelle cellule epiteliali bronchiali FC, possa aumentare l'efficienza di Kaftrio nel recupero funzionale della CFTR con mutazione F508del, anche in presenza di *P. aeruginosa*.

**Metodi essenziali** - Il progetto è stato sviluppato usando cellule epiteliali bronchiali FC alle quali sono stati somministrati composti di origine lipidica in associazione con la formulazione di Kaftrio. In particolare, è stata valutata la composizione degli sfingolipidi somministrando alle cellule sfingosina marcata e la stabilità della proteina mutata sulla membrana plasmatica. Inoltre, è stata analizzata, mediante *western blotting*, l'espressione della proteina mutata in cellule trattate con Kaftrio in presenza di *P. aeruginosa*.

**Risultati** - I dati ottenuti hanno dimostrato che la somministrazione esogena di GM1 riduce gli effetti destabilizzanti del VX-770 (i.e. ivacaftor) sulla proteina mutata in cellule trattate con i

modulatori di CFTR, mentre l'uso di un suo derivato non sembra avere effetti. L'azione destabilizzante di VX-770 dopo trattamento con Kaftrio è limitata: lo studio della composizione sfingolipidica mostra un aumento del contenuto del ganglioside GM1. Tuttavia, è stato osservato che *P. aeruginosa* riduce l'espressione della proteina mutata corretta. Pertanto, sarà valutato se la somministrazione esogena di GM1 possa contrastare la riduzione dell'efficacia di Kaftrio in presenza di *P. aeruginosa*.

**Conclusioni** - Il GM1 è una molecola già in uso per la cura di altre patologie. I risultati di questo studio potrebbero rappresentare il punto di partenza per lo sviluppo di nuove strategie terapeutiche basate sull'associazione di GM1 con correttori e potenziatori per migliorare l'efficacia dei trattamenti nei pazienti con FC.

## 16. Restoring defective proteostasis in cystic fibrosis: novel strategies for F508del-CFTR repair

Esposito S<sup>1</sup>, Vilella VR<sup>1</sup>, Artusi I<sup>2</sup>, Rubin M<sup>2</sup>, Ottaviani D<sup>2</sup>, Ferrari E<sup>1,3</sup>, Monzani R<sup>1,3</sup>, Venerando A<sup>4</sup>, Tosco A<sup>5</sup>, Castaldo A<sup>5</sup>, Sepe A<sup>5</sup>, Cimbalo C<sup>5</sup>, Bosello Travain V<sup>2</sup>, Rossetto M<sup>2</sup>, Roveri A<sup>2</sup>, Miotto G<sup>2</sup>, Venerando R<sup>2</sup>, Raia V<sup>5</sup>, Piacentini M<sup>6</sup>, Rossin F<sup>6</sup>, Cozza G<sup>2</sup>

<sup>1</sup> European Institute for Research in Cystic Fibrosis (IERFC), San Raffaele Institute, Milan, Italy, <sup>2</sup> Department of Molecular Medicine, University of Padua, <sup>3</sup> Department of Health Sciences, University of Eastern Piedmont, Novara, <sup>4</sup> Department of Comparative Biomedicine and Food Science, University of Padua, Italy, <sup>5</sup> Department of Translational medical sciences, University of Naples Federico II, Regional Cystic Fibrosis Care Unit, Naples, <sup>6</sup> Department of Biology, University of Rome Tor Vergata, Rome (FFC#4/2019, concluded - FFC#4/2021, extension)



Giorgio Cozza, in the middle, with his collaborators. In the pictures above the research partners: Federica Rossin, Speranza Esposito and Valeria Raia

**Background and hypothesis** - Cystic fibrosis (CF) is a life-shortening genetic disorder, caused by mutations of the ion channel CFTR. The most common F508del-CFTR mutant is unable to traffic to and reside at the plasma membrane (PM). Our alternative approach aims at targeting the derailed CF intracellular environment, through a combination of drugs able to affect specific molecular targets to inhibit TG2 activity.

**Rationale and objectives of the project** - We aim to 1) refine new targets 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 preclinical CF models.

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

**Results** - A) Identification of novel CFTR "rescuers". We have identified: i) novel promising compounds able to inhibit TG2 and restore CFTR function equally to Vertex correctors (>70%), in both CF-BE41o- cells and in *ex vivo* cells collected by nasal brushing from CF patients. ii) Modulators of protein kinases and Nrf2, by applying our drug discovery strategies; these compounds are effective in recovering F508delCFTR at the PM. iii) Novel molecules able to target specific radicals thus restoring CFTR level and activity. B) A multi targeting strategy. Promising results were obtained by studying the combination of these molecules thus demonstrating that: i) the rescued chan-

nel resides at the PM and autophagy flux is restored; ii) while seemingly unrelated, our novel targets are part of the same show; iii) our strategy can be complementary to the therapy currently approved. C) Evaluation of our novel strategy against other CFTR mutations. Besides F508del-CFTR, other mutations have been taken into consideration. On this respect, we have successfully validated our approach against N1303K mutation.

**Conclusions** - The results obtained during FFC#4/2019 will be used as a springboard for in-depth studies on our new targets through the FFC#4/2021 project entitled "Oxidative stress and autophagy in cystic fibrosis: Novel biochemical characterizations and drug discovery approaches", which will i) clarify the roles of several other molecular targets in CF; ii) translate our strategy to other CFTR mutations where no effective therapies are actually available; iii) pave the way for novel clinical studies with single drug candidates or a combination of them able to improve the life of CF patients.

## Ripristino della proteostasi difettiva in fibrosi cistica: nuove strategie per il recupero di F508del-CFTR

**Razionale dello studio** - La fibrosi cistica (FC) è una malattia genetica a prognosi infausta, causata da mutazioni della proteina CFTR. La proteina portatrice della mutazione più comune, F508del, non è in grado di stazionare a livello della membrana plasmatica. Attualmente sono disponibili terapie per i pazienti omozigoti per F508del. Il nostro approccio alternativo mira a migliorare il compartimento intracellulare che causa la bassa espressione del CFTR sulla superficie cellulare, attraverso la combinazione di molecole in grado di intercettare specifici target molecolari.

**Ipotesi e obiettivi** - Il nostro progetto ha l'obiettivo di 1) definire nuovi target terapeutici nella FC usando un network di approcci computazionali e sperimentali; 2) validare l'efficacia delle nuove molecole candidate in modelli preclinici di FC.

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

**Risultati** - A) Identificazione di nuove molecole capaci di recuperare il CFTR. Abbiamo identificato: i) nuovi composti promettenti in grado di inibire TG2 e ripristinare la funzione CFTR similmente ai correttori di Vertex (>70%), sia in cellule CFBE41o- sia *ex vivo* in cellule derivate da *brushing* nasale di pazienti FC. ii) Modulatori di proteina chinasi e Nrf2, applicando le nostre strategie di *drug discovery*; questi composti, sono risultati efficaci nel recuperare F508del-CFTR sulla membrana plasmatica. iii) Nuove molecole indirizzate a radicali specifici, ripristinando il livello e l'attività del CFTR. B) Una strategia multi-targeting. Risultati promettenti sono stati ottenuti studiando la combinazione di queste molecole dimostrando che: i) il canale è recuperato nella membrana plasmatica e il flusso autofagico viene ripristinato; ii) sebbene apparentemente non correlati, i nostri nuovi target co-partecipano agli stessi eventi cellulari; iii) la nostra strategia può essere complementare alla terapia attualmente approvata. C) Valutazione della nostra nuova strategia contro altre mutazioni CFTR. Oltre a F508del, altre mutazioni sono state prese in considerazione. A questo proposito, abbiamo convalidato con successo il nostro approccio contro la mutazione N1303K.

**Conclusioni** - I risultati ottenuti durante FFC#4/2019 saranno usati come trampolino di lancio per studi approfonditi attraverso il progetto FFC#4/2021 intitolato "Stress ossidativo e autofagia in fibrosi cistica: nuovi approcci biochimici e di individuazione di farmaci" che i) chiarirà i ruoli dei nuovi bersagli molecolari in FC; ii) traslerà la nostra strategia ad altre mutazioni dove non sono disponibili terapie efficaci; iii) aprirà la strada a nuovi studi clinici con singoli farmaci o una combinazione di essi in grado di migliorare la vita dei pazienti FC.



Framing the QR code to reach the presentation of the FFC#4/2021 project

## 17. Preclinical study of a combined host- and pathogen directed approach based on bioactive liposomes and bacteriophages against *Mycobacterium abscessus* infection

Poerio N<sup>1</sup>, Riva C<sup>2</sup>, Olimpieri T<sup>1</sup>, Lorè N<sup>2</sup>, De Santis F<sup>1</sup>, Henrici De Angelis L<sup>1,4</sup>, Ciciriello F<sup>3</sup>, D'Andrea MM<sup>1</sup>, Lucidi V<sup>3</sup>, Cirillo DM<sup>2</sup>, Fraziano M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, University of Rome Tor Vergata, Rome, Italy, <sup>2</sup>Emerging Bacteria Pathogens Unit, San Raffaele Scientific Institute, Milan, Italy, <sup>3</sup>Fibrosis Unit, Paediatric Hospital "Bambino Gesù", Rome, Italy, <sup>4</sup>Department of Medical Biotechnologies, University of Siena, Siena, Italy (FFC#21/2019, concluded)



Maurizio Fraziano (third from the left) with his collaborators

**Background and hypothesis** - *Mycobacterium abscessus* is the etiological agent of severe pulmonary infections in vulnerable patients, such as those with cystic fibrosis (CF), where it represents a relevant cause of morbidity and mortality. We have previously developed a host-directed therapy based on apoptotic body-like liposomes (ABL) loaded with selected bioactive lipids able to enhance bactericidal innate immunity against multidrug resistant (MDR) pulmonary infections and to simultaneously limit potentially pathogenic inflammatory response.

**Rationale and objectives of the project** - The main goal of this project was the development of a novel combined host- and pathogen- directed therapeutic approach, based on bioactive liposomes (as an example of host-directed therapy, HDT) and phages (as an example of pathogen-directed therapy, PDT) against *M. abscessus* infection. As the identification of *M. abscessus* specific phages from environmental as well as clinical samples did not result in potential phage candidates so far, the therapeutic value of the combined strategy was assessed by using the antibiotic amikacin (AMK) as PDT.

**Essential methods** - Differentiated THP-1 cells (dTHP-1), used as a model of human macrophages, and primary macrophages derived by CF patients or healthy donors (HD), were treated or not with CFTR inhibitor, in vitro infected or not with *M. abscessus*, and finally stimulated with selected ABL and/or AMK. Treatments were evaluated in terms of i) bacterial uptake, ii) phagosome maturation and iii) intracellular mycobacterial killing. The efficacy of the combined treatment was also evaluated in in vivo murine model of chronic infection with *M. abscessus*, in terms of leukocyte recruitment and pulmonary mycobacterial burden.

**Results** - Results show that ABL loaded with Phosphatidylinositol 5-phosphate (ABL/PI5P) enhance antimycobacterial response, both in macrophages from HD, exposed to INH172, and from CF patients, by enhancing phagosome acidification and ROS production. The therapeutic treatment with liposomes of wild type as well as CF mice, intratracheally infected with *M. abscessus*, resulted in about 200 fold reduction of pulmonary mycobacterial burden, and a significant reduction of macrophages and neutrophils in BALF. Finally, the combination treatment with ABL/PI5P and AMK of WT mice as

well as CF mice, resulted in a further significant reduction of both pulmonary mycobacterial burden and inflammatory response in comparison with the single treatments.

**Conclusion** - These results offer the proof of concept of a novel efficient therapeutic regimen based on the combination of host- and pathogen- directed therapeutic strategy against *M. abscessus* infection, and for the control of related immunopathogenic response, for which therapeutic options are still limited in CF patients.

## Studio preclinico di una strategia terapeutica combinata basata su liposomi bioattivi e batteriofagi contro le infezioni causate da *Mycobacterium abscessus*

**Razionale dello studio** - *Mycobacterium abscessus* è un patogeno opportunistico, causa di infezioni polmonari gravi in pazienti vulnerabili come quelli affetti da fibrosi cistica (FC), dove rappresenta una rilevante causa di mortalità. Abbiamo generato dei liposomi simili a corpi apoptotici (*Apoptotic Body-like Liposomes*, ABL) caricati con lipidi bioattivi, in grado di potenziare la risposta antimicrobica innata nei confronti di batteri patogeni multifarmacoresistenti (MDR) e limitare la risposta infiammatoria.

**Ipotesi e obiettivi** - L'obiettivo principale di questo progetto è stato quello di validare in modelli *in vitro* e *in vivo* una nuova formulazione basata su liposomi bioattivi (come esempio di terapia diretta all'ospite, TDO) e fagi (come esempio di terapia diretta al patogeno, TDP) contro l'infezione da *M. abscessus*. Poiché l'identificazione di fagi specifici per *M. abscessus* da campioni ambientali e clinici non ha portato finora a potenziali candidati fagici, il valore terapeutico della strategia combinata è stato valutato usando l'antibiotico amikacina (AMK) come TDP.

**Metodi essenziali** - Gli ABL sono stati caricati con differenti lipidi bioattivi, combinati o meno all'AMK e analizzati in macrofagi primari derivati da pazienti affetti da FC o da donatori sani, trattati o no con l'inibitore farmacologico del CFTR (INH172) e infettati *in vitro* con *M. abscessus*. I trattamenti sono stati valutati in termini di potenziamento delle varie fasi del processo di fagocitosi (internalizzazione batterica, maturazione fagosomale e uccisione intracellulare). L'efficacia del trattamento combinato è stata valutata anche in un modello *in vivo* di infezione cronica causata da *M. abscessus*, in termini di risposta infiammatoria e carica batterica polmonare.

**Risultati** - I risultati mostrano che i liposomi caricati con fosfatidilinositolo 5-fosfato (ABL/PI5P) migliorano la risposta antimicrobica, sia nei macrofagi di donatori sani esposti a INH172 sia in pazienti FC, migliorando la maturazione fagosomale. Il trattamento con liposomi in topi, infettati cronicamente con *M. abscessus*, ha determinato una riduzione sia dei micobatteri polmonari sia della risposta infiammatoria, che è risultata essere ancora più significativa in presenza del trattamento combinato ABL/PI5P e AMK.

**Conclusioni** - Questi risultati offrono la base per lo sviluppo di un nuovo regime terapeutico basato su liposomi bioattivi e antibiotici, in grado da una parte di potenziare la risposta antimicrobica innata (tramite liposomi bioattivi), dall'altra di avere un effetto microbicida diretto sul patogeno (tramite antibiotico AMK). Questo approccio sarà utile contro le infezioni da *M. abscessus* in pazienti FC e può essere potenzialmente applicabile anche a infezioni sostenute da altri batteri patogeni MDR.

## 18. Unravelling novel biomarkers to define the progression of *Mycobacterium abscessus* lung disease in cystic fibrosis

Lorè NI<sup>1</sup>, Gramegna A<sup>2</sup>, Saliu F<sup>1</sup>, Brogginì G<sup>1</sup>, Spitaleri A<sup>1</sup>, Di Marco F<sup>1</sup>, Giannese F<sup>3</sup>, Lazarevic D<sup>3</sup>, Cariani L<sup>4</sup>, Teri A<sup>4</sup>, Girelli D<sup>4</sup>, Tortoli E<sup>1</sup>, Aliberti S<sup>5</sup>, Tonon G<sup>3</sup>, Blasi F<sup>2</sup>, Cirillo DM<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Emerging Bacterial Pathogens Unit, IRCCS San Raffaele Scientific Institute, <sup>2</sup>Respiratory Unit and Cystic Fibrosis Adult Center, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milan, Italy, <sup>3</sup>Center for Omics Sciences, IRCCS San Raffaele Institute, Milan, Italy, <sup>4</sup>Cystic Fibrosis Microbiology Laboratory, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milan, Italy, <sup>5</sup>IRCCS Humanitas Research Hospital, Respiratory Unit, Rozzano, Milan, Italy (FFC#23/2020, ongoing)



Nicola Ivan Lorè

**Background and hypothesis** - Among nontuberculous mycobacteria (NTM), the *Mycobacterium abscessus* (MA) complex are recently rising up as emerging pathogens in cystic fibrosis (CF) population. CF patients with occurrence of *M. abscessus* on sputum cultures might display heterogeneous clinical outcomes, ranging from asymptomatic colonization to progressive pulmonary disease (MA-PD). Thus, the development of new reliable biomarkers is among the unmet needs for the clinical management in this population.

**Rationale and objectives of the project** - We aimed at: 1) identifying pathogenicity of CF *M. abscessus* strains isolated from patients with CF and chronic occurrence of *M. abscessus* at different stage of disease; 2) determining unique blood immune signatures associated with the risk of MA-PD;

**Essential methods** - 1) We collected longitudinal *M. abscessus* strains isolated from patients both at the early phase of chronic colonization and during MA-PD. Phenotypic (rough and smooth phenotype) analysis and bacterial genomic sequencing were performed. Then, we evaluated the pathogenic potential of these CF isolates in *in vitro* exploiting CF pulmonary epithelial cells. The host cytotoxicity, transcriptomic immune response and a panel of eight pro-inflammatory cytokines induced by clinical isolates have been evaluated. 2) Moreover a retrospective observational study was set up collecting blood samples from *M. abscessus* infected patients with or without the PD in orders to determine blood single cell transcriptomic signatures.

**Results** - We observed that rough strains are mainly isolated in patients at risk of MA-PD. Exploiting our *in vitro* model of CF epithelial-*M. abscessus* interaction, we determined that rough strains show a significantly higher cytotoxicity and higher secretion of IL-8 and IL-6 pro-inflammatory cytokines in comparison to the smooth bacterial isolates. *In vitro* host transcriptomic immune response is still under evaluation.

The second aim is still ongoing. To date, the hospital ethics committee was approved, and we are collecting blood samples from the designed cohort of CF patients at the Milan Adult CF center.

**Conclusions** - The identification of novel candidate biomarkers will represent a step forward for a better clinical profiling of CF patients colonized by *M. abscessus*. Overall these new biomarkers will

better explain the heterogeneity of disease progression observed in CF patients colonized by *M. abscessus*.

## Identificazione di nuovi marcatori biologici per la progressione della malattia polmonare indotta da *Mycobacterium abscessus* in fibrosi cistica

**Razionale dello studio** - Tra i micobatteri non tubercolari (NTM) il *Mycobacterium abscessus* complex risulta essere tra i patogeni emergenti nei pazienti con fibrosi cistica (FC) a livello europeo. I pazienti con positività alla coltura di *M. abscessus* mostrano esiti clinici eterogenei, che vanno dalla colonizzazione al declino della funzionalità polmonare, una condizione nota come *M. abscessus* Pulmonary Disease (MA-PD). Pertanto, sono urgentemente necessari nuovi marcatori biologici per definire in modo dettagliato le diverse fasi della malattia polmonare al fine di migliorare i processi decisionali clinici riguardante il trattamento delle infezioni da *M. abscessus*.

**Ipotesi e obiettivi** - Lo scopo del nostro studio sarà quello di: 1) Definire il possibile ruolo patogeno di *M. abscessus* isolati da pazienti con FC cronicamente infetti a diversi stadi della malattia. 2) Caratterizzare la risposta infiammatoria sistemica associata alla malattia polmonare da *M. abscessus*.

**Metodi essenziali** - 1) Sono stati collezionati ceppi di *M. abscessus* isolati da pazienti FC cronicamente infetti a diversi stadi della malattia. Su tutti i ceppi è stata eseguita la caratterizzazione fenotipica (mucoso o rugoso) e il sequenziamento del genoma batterico. I potenziali fattori di virulenza dei ceppi di *M. abscessus* sono stati valutati *in vitro* usando un modello cellulare epiteliale FC. 2) Inoltre è stato avviato uno studio osservazionale retrospettivo che consente di raccogliere campioni biologici da pazienti colonizzati da *M. abscessus* con o senza MA-PD per identificare nuovi biomarcatori usando il sequenziamento dell'RNA di singole cellule (analisi che consentono di valutare espressione genica in singole cellule).

**Risultati** - È stato osservato che i ceppi con fenotipo rugoso sono principalmente isolati in pazienti maggiormente a rischio di MA-PD. In termini di virulenza, le cellule epiteliali FC infettate con i ceppi rugosi risultano avere un maggiore rilascio di citochine proinfiammatorie (IL-8 e IL-6) e una ridotta vitalità rispetto alle cellule trattate con i ceppi definiti lisci. Il sequenziamento dell'intero trascrittoma delle cellule FC trattate con i diversi ceppi clinici è ancora in fase di valutazione. Per il secondo obiettivo, abbiamo disegnato uno studio osservazionale retrospettivo. La raccolta dei campioni e l'analisi del trascrittoma a singola cellula verrà completata per la fine del secondo anno di progetto. A oggi, il progetto è stato approvato dal comitato etico dell'ospedale e stiamo raccogliendo campioni di sangue dalla coorte progettata di pazienti FC presso il centro FC Adulti di Milano.

**Conclusioni** - I risultati ottenuti in questo progetto avranno un potenziale impatto nella realtà clinica della FC definendo meglio le diverse fasi della malattia polmonare durante le infezioni da *M. abscessus*, con un potenziale approccio traslazionale nei processi decisionali associati all'infezione da NTM.

## 19. New weapons against *Mycobacterium abscessus* and other nontuberculous mycobacteria

Degiacomi G<sup>1</sup>, Chiarelli LR<sup>1</sup>, Stelitano G<sup>1</sup>, Recchia D<sup>1</sup>, Muñoz Muñoz L<sup>2</sup>, Riabova O<sup>3</sup>, Loré NI<sup>4</sup>, Monakhova N<sup>3</sup>, Saliu F<sup>4</sup>, Ezquerro Aznárez JM<sup>2</sup>, Cirillo DM<sup>4</sup>, Ramón-García S<sup>2</sup>, Tortoli E<sup>4</sup>, Makarov V<sup>3</sup>, Pasca MR<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology and Biotechnology "Lazzaro Spallanzani", University of Pavia, Pavia, Italy, <sup>2</sup> Research and Development Agency of Aragón (ARAID) Foundation/Dep. Microbiology/Fac. Medicine, University of Zaragoza, Spain, <sup>3</sup>Bakh Institute of Biochemistry, Russian Academy of Science, Moscow, Russia, <sup>4</sup>Emerging Bacterial Pathogens Unit, Division of Immunology, Transplantation and Infectious Disease, IRCCS San Raffaele, Milano, Italy (FFC#14/2020, pilot project concluded - FFC#18/2021 extension)



Clockwise from left: Maria Rosalia Pasca, in charge of the project, and her research partners Vladimir Makarov, Enrico Tortoli and Santiago Ramón-García

**Background and hypothesis** - The incidence of *Mycobacterium abscessus* is increasing among cystic fibrosis (CF) patients worldwide. Its therapy is long, and its failure is linked to an accelerated lung function decline. Consequently, new active drugs are needed.

**Rationale and objectives of the project** - We followed two approaches to fight *M. abscessus*: new active compounds and repurposing drugs. 11326083 was selected among 700 compounds as bactericidal and very active against *M. abscessus*. The antimalarial mefloquine and a benzimidazole derivative were identified as possible MmpL3 inhibitors active against *M. abscessus*. Their preclinical characterization was performed.

**Essential methods** - To pursue our aims, we used microbiological, chemical and biochemical procedures.

**Results** - We validated MmpL3 as target of Mefloquine and benzimidazole derivative by analysing the *M. abscessus* lipid and mycolic acid content upon treatment. For the preclinical evaluation of 11326083, 24 derivatives and 6 putative metabolites were synthesized, finding only 11226084 more active than 11326083 (MIC=0,25 µg/ml). We showed that 11326083 is hydrolysed into 11226084, which is its active metabolite. So, we focussed on 11226084, which is bactericidal and active against MDR isolates.

By Calgary Biofilm Device and confocal Laser Scanning Microscopy we demonstrated that 11226084 is more active in biofilm prevention than in the treatment of a mature biofilm.

By High-Throughput Synergy Screens and Time-Kill Assay we established that 11226084 is suitable for combination therapy with 9 antibiotics against *M. abscessus* since no antagonism was found.

11226084 water soluble derivative was synthesized for animal experiments. Promising data were obtained for acute/subacute toxicity (LD50=455,78±21,79); the dose 50 mg/kg was well tolerated in 2 weeks.

Finally, we evaluated its activity in *M. abscessus* infected mice. We induced chronic infection as described; after one week, mice were daily treated with 11226084 by intraperitoneal (IP)/oral administration for 2 weeks. IP administration showed a trend of reduction similar to positive control amikacin.

**Conclusions** - All the results indicate that 11226084 could be a promising drug anti-*M. abscessus* candidate. The following preclinical studies are ongoing:

- Pharmacokinetics, metabolism and toxicity;
- Mechanism of action by target fishing;
- Activity against non-replicant cells;
- Activity in combination with gene correctors also against biofilm;
- Activity in vivo using different administration routes.

## Nuove armi contro *Mycobacterium abscessus* e altri micobatteri non tubercolari

**Razionale dello studio** - L'incidenza di *Mycobacterium abscessus* è in aumento tra gli individui affetti da fibrosi cistica in tutto il mondo. La terapia può durare fino a 2 anni e una sua mancata

efficacia porta a un accelerato declino della funzione polmonare. Di conseguenza, sono necessari nuovi farmaci.

**Ipotesi e obiettivi** - Abbiamo usato due approcci per combattere questo patogeno: la ricerca di nuovi composti e lo studio di farmaci già esistenti. Il composto 11326083, selezionato tra 700 composti, è risultato battericida e molto attivo contro *M. abscessus*. Il farmaco antimalarico meflochina e un derivato del benzimidazolo sono stati identificati come possibili inibitori di MmpL3, una proteina necessaria per la vita del batterio, e sono attivi contro *M. abscessus*. È stata effettuata la loro caratterizzazione preclinica.

**Metodi essenziali** - Per perseguire i nostri obiettivi, abbiamo usato procedure microbiologiche, chimiche e biochimiche.

**Risultati** - Mediante un approccio biochimico abbiamo validato MmpL3 come bersaglio della meflochina e del derivato del benzimidazolo. Per la valutazione preclinica di 11326083, sono stati sintetizzati 24 derivati e 6 metaboliti putativi, di cui uno, il composto 11226084, è risultato più attivo di 11326083. Abbiamo dimostrato che il composto 11326083 viene trasformato in 11226084, che quindi risulta essere il suo metabolita attivo. Quindi, ci siamo concentrati su 11226084, che si è dimostrato battericida, attivo contro isolati clinici resistenti agli antibiotici e contro il biofilm di *M. abscessus*. Inoltre, questo composto può essere usato in combinazione con 9 antibiotici non mostrando antagonismo. Il composto non ha mostrato tossicità in topi sani, per cui abbiamo valutato la sua attività in topi infettati da *M. abscessus*. È stata indotta l'infezione cronica; dopo una settimana, i topi sono stati trattati giornalmente con il composto mediante somministrazione intraperitoneale/orale per 2 settimane. La somministrazione intraperitoneale ha mostrato una tendenza alla riduzione simile a quella mostrata dall'amikacina (controllo positivo).

**Conclusioni** - Tutti i risultati indicano che il composto 11226084 può essere un promettente farmaco candidato contro *M. abscessus*. Per la sua caratterizzazione preclinica sono in corso i seguenti studi:

- Farmacocinetica, metabolismo e tossicità;
- Meccanismo d'azione;
- Attività contro cellule non replicanti e in combinazione con i correttori genici;
- Attività in modelli murini usando diverse vie di somministrazione.



Framing the QR code to reach the presentation of the FFC#18/2021 project

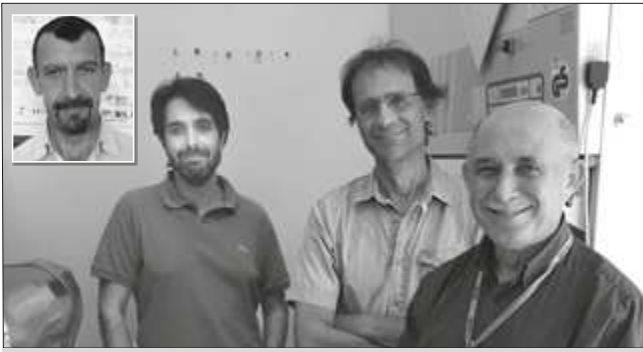
## 20. New drug combinations against nontuberculous mycobacteria infections in cystic fibrosis

Fattorini L<sup>1</sup>, Borroni E<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Malattie Infettive, Istituto Superiore di Sanità, Roma, <sup>2</sup>Unità patogeni batterici emergenti, Ospedale San Raffaele, Milano (FFC#12/2020, pilot project concluded – FFC#17/2021, extension)

**Background and hypothesis** - Nontuberculous mycobacteria (NTM) may cause chronic pulmonary infections in patients with cystic fibrosis (CF). *Mycobacterium abscessus* and *M. avium-intracellulare* complex are the most common species isolated. NTM form biofilms within thickened alveolar walls and airways of CF patients. When biofilms reach a thickness of >40 nm, oxygen depletion occurs, and hypoxia restricts NTM growth from replicating aerobic (A) to non-replicating hypoxic (H), drug-tolerant (anaerobic) stages.

**Rationale and objectives of the project** - To combat NTM infections, we need to find new combinations killing both A and H cells, containing current drugs with at least 1 drug active against anaerobic bacilli.



Lanfranco Fattorini (first from right) and Emanuele Borrioni (top left)

**Essential methods** - Following exposure of *M. abscessus* to drug combinations under A and H (Wayne dormancy culture model) conditions, killing activity was evaluated by colony forming units and lack of regrowth in liquid medium (day-to-positivity in MGIT 960) of 1-day-old A cells (A1) and 5-day-old H cells (H5).

**Results** - After setting up 40-day-old A and H culture conditions using *M. abscessus* strain 10, we tested activity against it of 2-, 3-, 4- and 5-drug combinations selected from 8 drugs with anti-*M. abscessus* activity and 10 nitro-compounds active against anaerobic bacteria. Combinations of bedaquiline (B, a new anti-tuberculosis drug), amikacin (A), rifabutin (R), moxifloxacin (MX), clofazimine (CLO, anti-leprosy drug) and metronidazole (MZ, anti-anaerobic drug) were the most promising. B+A (BA)-containing combinations were the most active against A+H bacilli. After 14 days of incubation, the most active 3-drug combinations were (BA)+MX and (BA)+CLO against A-cells, and (BA)+CLA and (BA)+MZ against H cells. On day 42, killing of H cells was improved by addition of MZ to (BA)+CLA. On day 49, (BA)+R+CLA+MZ killed A+H cells while (BA)+CLO+MZ killed A but not H cells. Presently, activity of (BA)+R+CLA+MZ and (BA)+CLO+MZ is tested for >49 days against CF *M. abscessus* isolates with low and high drug-resistance, evaluated by minimum inhibitory concentration (MIC) and whole genome sequencing.

**Conclusions** - *M. abscessus* H cells (dormant persisters), likely living in CF biofilm, are more difficult to kill by drugs than A cells. It is expected that longer (>49 days) exposure to these and other combinations sterilize A+H cells of CF isolates: the MICs are useful to guide the combination choice. These data may explain why *M. abscessus*-infected CF patients need months of antibiotic therapy.

## Nuove combinazioni di farmaci contro le infezioni da micobatteri non tubercolari nella fibrosi cistica

**Razionale dello studio** - I micobatteri non tubercolari (MNT) possono causare infezioni polmonari croniche in pazienti con fibrosi cistica (FC). *Mycobacterium abscessus* e *M. avium-intracellulare* complex sono le specie più isolate. I MNT formano biofilm nelle pareti alveolari ispessite e nelle vie aeree dei pazienti con FC. Quando il biofilm raggiunge uno spessore di >40 nm, l'ossigeno diminuisce e i MNT passano dalla fase aerobia (A) a quella ipossica (H), anaerobia, non replicativa e tollerante ai farmaci.

**Ipotesi e obiettivi** - Per combattere i MNT, occorre trovare nuove combinazioni di farmaci già in uso, con almeno uno di essi attivo verso i batteri anaerobi, in modo da uccidere sia le fasi A che H.

**Metodi essenziali** - Le colture in fase A di 1 giorno (A1) e H di 5 giorni (H5), ottenute nel modello di Wayne sono state trattate con gli antibiotici e l'attività battericida valutata mediante conta delle unità formanti colonie e assenza di ricrescita in terreno liquido (MGIT 960).

**Risultati** - Dopo la messa a punto di colture di 40 giorni in fase A e H del ceppo 10 di *M. abscessus*, è stata misurata l'attività di combinazioni di 2, 3, 4 e 5 farmaci selezionati tra 8 con attività anti-*M. abscessus* e 10 nitrocomposti anti-anaerobi. Le combina-

zioni contenenti bedaquilina (B, un nuovo antitubercolare), amikacina (A), rifabutina (R), moxifloxacina (MX), clofazimina (CLO, anti-lebbra) e metronidazolo (MZ, anti-anaerobi) sono state le più promettenti, e quelle contenenti B+A (BA) le più attive sia verso cellule A che H. Dopo 14 giorni di incubazione, le combinazioni più potenti erano (BA)+MX e (BA)+CLO verso la fase A e (BA)+CLA e (BA)+MZ verso la fase H. Al giorno 42, l'attività anti-H di (BA)+CLA veniva aumentata dal MZ. Al giorno 49, (BA)+R+CLA+MZ uccideva le fasi A e H mentre (BA)+CLO+MZ uccideva le cellule A ma non H. Al momento, (BA)+R+CLA+MZ e (BA)+CLO+MZ vengono saggiate per >49 giorni verso le fasi A e H di isolati clinici da FC di *M. abscessus* a bassa e alta resistenza, valutata mediante concentrazione minima inibente (MIC) e whole genome sequencing.

**Conclusioni** - Le cellule della fase H di *M. abscessus* (dormant persisters) che vivono nel biofilm sono più difficili da uccidere di quelle della fase A. Riteniamo che il trattamento con queste e altre combinazioni per >49 giorni possa uccidere le cellule A+H dei ceppi clinici: le MIC saranno utili per guidare la scelta delle combinazioni. Questi dati spiegano perché i pazienti con CF infettati da *M. abscessus* hanno bisogno di mesi di terapia antibiotica.

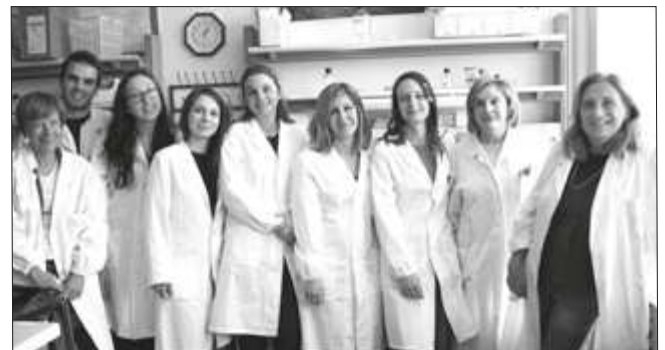


Framing the QR code to reach the presentation of the FC#17/2021 project

## 21. Investigating *Achromobacter xylosoxidans* pathogenicity and clinical role in CF lung infection

Lleo' MM

Dip. Diagnostica e Sanità Pubblica, Università di Verona (FFC#18/2019, concluded)



Maria Del Mar Lleò (first from right) with her lab researchers

**Background and hypothesis** - *Achromobacter* spp. is frequently isolated in sputum samples from CF patients. Although its clinical role is not fully clear yet, chronic infection has been associated with lung inflammation, increased frequency of exacerbations and decline of the respiratory function.

**Razionale and objectives of the project** - *Achromobacter* spp. pathogenicity is probably related to virulence features supporting invasion and survival in CF lungs, similarly to other CF pathogens. We aimed at characterizing genomic and phenotypic features that could be associated with pathogenicity of *Achromobacter* spp. clinical isolates and correlate them with the clinical condition of the infection.

**Essential methods** - Genomic analysis was performed on 54 *Achromobacter* spp. isolates collected from 26 patients (CF Center

of Verona). Phenotypic analysis was performed on these isolates and, additionally, on 41 isolates collected from 12 patients at the Bambino Gesù Hospital in Rome. We compared all genomic and phenotypic features between early/late chronic and occasional infection isolates. Three isolates with different characteristics were used to infect wt and CF mice and evaluate lung inflammation.

**Results** - Most occasional isolates lacked functional genes involved in invasiveness, chemotaxis, T3SS and anaerobic growth, whereas most late chronic isolates lacked functional genes involved in LPS production. Hypermutation was only observed in chronic isolates. Virulence testing showed that occasional isolates induced higher mortality of *Galleria mellonella* larvae, while chronic isolates induced greater cytotoxicity in bronchial epithelial cells. Isolates showing high and medium virulence induced IL-8-dependent lung inflammation in wt and CF mice, while a non-virulent strain induced a low level of inflammation only in CF mice.

**Conclusions** - *Achromobacter* spp. can exhibit different adaptive mechanisms and some of these mechanisms might be more useful to establish a chronic infection in CF patients and might contribute to lung inflammation and consequent lung damages. This highlights the importance of identifying virulent isolates at an early stage of the infection to prevent worsening of the lung disease.

## Studio della patogenicità di *Achromobacter* e del suo ruolo clinico in fibrosi cistica

**Razionale dello studio** - *Achromobacter* viene spesso isolato nei campioni di espettorato dei pazienti FC. Sebbene il suo ruolo clinico non sia ancora del tutto chiaro, l'infezione cronica è stata associata a infiammazione polmonare, aumento della frequenza delle esacerbazioni e declino della funzionalità respiratoria.

**Ipotesi e obiettivi** - La patogenicità di *Achromobacter* è probabilmente correlata a fattori di virulenza che supportano l'invasione e la persistenza nell'ambiente polmonare FC. Obiettivo dello studio è stato l'identificazione di caratteristiche genomiche e fenotipiche che possano essere associate alla patogenicità di *Achromobacter* e la loro correlazione con la condizione clinica dell'infezione.

**Metodi essenziali** - Un'analisi genomica è stata eseguita su 54 ceppi clinici di *Achromobacter* raccolti da 26 pazienti (Centro FC di Verona). Un'analisi fenotipica è stata eseguita su questi isolati e su 41 ulteriori ceppi raccolti da 12 pazienti dell'Ospedale Bambino Gesù di Roma. Abbiamo confrontato tutte le caratteristiche genomiche e fenotipiche tra gli isolati provenienti da infezione cronica precoce/tardiva e occasionale. Tre isolati con caratteristiche diverse sono stati usati per valutare *in vivo* la loro capacità di indurre infiammazione polmonare.

**Risultati** - La maggior parte degli isolati occasionali mancava di geni funzionali coinvolti nei processi di invasione e persistenza, mentre la maggior parte degli isolati cronici tardivi mancava di geni funzionali coinvolti nella produzione un componente della membrana cellulare batterica, che può stimolare la risposta immunitaria. Il fenomeno evolutivo dell'ipermutazione è stato osservato solo nei ceppi cronici. Nei test *in vitro*, gli isolati occasionali hanno mostrato maggiore virulenza rispetto ai ceppi cronici, mentre questi ultimi hanno una maggiore citotossicità. Isolati che mostrano una virulenza alta e media hanno indotto una forte infiammazione polmonare *in vivo*, mentre un ceppo classificato come non virulento ha indotto un basso livello di infiammazione solo in animali FC.

**Conclusioni** - *Achromobacter* può esibire diversi meccanismi adattativi; alcuni di questi meccanismi sembrano essere più utili di altri per stabilire un'infezione cronica nei polmoni dei pazienti FC e possono contribuire all'infiammazione polmonare e ai conseguenti danni polmonari. Ciò evidenzia l'importanza di identificare gli isolati virulenti in una fase iniziale dell'infezione per prevenire il peggioramento della malattia polmonare.

## 22. Gallium as an antibacterial agent in cystic fibrosis: animal studies for the delivery of inhalable formulations to the clinic

Visca P<sup>1</sup>, Sorrentino R<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze, Unità Microbiologia, Università Roma Tre, <sup>2</sup>Dip. di Farmacia, Università di Napoli Federico II (FFC#19/2019, concluded)



Paolo Visca, in charge of the project, and the research partner Raffaella Melfi

**Background and hypothesis** - Morbidity and mortality in cystic fibrosis (CF) patients is ultimately attributable to persistent *Pseudomonas aeruginosa* pulmonary infection. Work from our and other groups has shown that the iron-mimetic metal Gallium [Ga(III)] inhibits *Pa* growth<sup>1,2</sup>. Ga(III)-based anti-*P. aeruginosa* therapies are substantiated by clinical trials showing favourable pharmacokinetics, safety, efficacy and tolerability profiles of intravenously administered Ganite [FDA-approved Ga(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>] in CF patients chronically infected by *Pa*<sup>3</sup>.

**Rationale and objectives of the project** - Drug delivery to the respiratory tract represents the treatment of choice for CF lung infections, since it maximizes drug concentration at the site of infection, improves therapeutic efficacy, and minimizes systemic side effects. This project aims to provide evidence of *in vivo* antibacterial activity of novel inhalable Ga(III) formulations, for the delivery of safer and more effective Ga(III)-based drugs to the clinic.

**Essential methods** - Project main goals include the assessment of: i) the anti-*P. aeruginosa* activity of selected Ga(III) formulations; ii) the immunomodulatory properties of Ga(III) formulations; iii) the toxicity and distribution of Ga(III) formulations after administration [intratracheal (i.t.) or nasal instillation (n.i.)] in mice; iv) the protective efficacy of Ga(III) formulations in a mouse model of *P. aeruginosa* pneumonia. Ga(III) formulations consist of inhalable dry powders (Ga\_Man\_NEM), produced by a 2-step process comprising Ga(III) encapsulation in mucus-penetrating polymer nanoparticles and their subsequent embedding in mannitol-based micron-scale powders.

**Results** - The best Ga\_Man\_NEM formulation selected based on Ga(III) content, *in vitro* aerosol performance and sustained release kinetics in lung lining fluids, displayed promising anti-*P. aeruginosa* activity on a representative collection of 50 *P. aeruginosa* CF isolates. Ga\_Man\_NEM enhanced (up to 2-fold) *P. aeruginosa* phagocytosis by human macrophages. Single intratracheal administration of Ga\_Man\_NEM (range 5.4-54 µg/mouse) significantly improved the survival of mice challenged with a 70 % lethal dose of *P. aeruginosa* (strain PAO1), whereas equi-doses of Ga(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> or Ga(III)-free Man\_NEM formulations gave no protection.

**Conclusions** - Preliminary *in vitro* studies indicate that Ga\_Man\_NEM formulations inhibit *P. aeruginosa* growth and promote *P. aeruginosa* phagocytosis. *In vivo* experiments highlighted a promising range of protective efficacy of Ga\_Man\_NEM in murine lethal pneumonia caused by *P. aeruginosa*. Our findings hold promise for future clinical application of Ga(III) inhalation therapy in CF patients.

## Il gallio come agente antibatterico in fibrosi cistica: studi preclinici di formulazioni inalabili a base di gallio in modelli animali

**Razionale dello studio** - I pazienti con fibrosi cistica (FC) incorrono in frequenti infezioni polmonari causate da ceppi di *P. aeruginosa* multi-resistenti agli antibiotici. Studi del nostro e altri gruppi di ricerca hanno dimostrato che il gallio [Ga(III)] inibisce la crescita di *P. aeruginosa* perturbando il metabolismo batterico del ferro. Studi clinici condotti in pazienti FC con infezione cronica da *P. aeruginosa* hanno dimostrato che la somministrazione intravenosa di Ga(III) risulta efficace e non determina l'insorgenza di effetti collaterali.

**Ipotesi e obiettivi** - Nei pazienti FC la somministrazione di farmaci per via aerosolica è di elezione in quanto comporta una maggiore concentrazione del farmaco nel polmone e ne riduce gli effetti collaterali sistemici. Il nostro progetto prevede uno studio preclinico, condotto in modelli murini, finalizzato a dimostrare l'efficacia di formulazioni inalabili di Ga(III) per contrastare le infezioni polmonari causate da *P. aeruginosa*.

**Metodi essenziali** - La formulazione inalabile di Ga(III) che ha mostrato migliori proprietà aerodinamiche e di rilascio controllato è stata analizzata per le proprietà anti-*P. aeruginosa* *in vitro* su una collezione rappresentativa di isolati clinici. Sono in corso studi *in vivo* finalizzati a confrontare la tossicità delle formulazioni di Ga(III) e la loro capacità di proteggere topi da infezioni polmonari da *P. aeruginosa*.

**Risultati** - L'attività antibatterica della formulazione di gallio è stata saggiata su 50 ceppi clinici di *P. aeruginosa*. I risultati ottenuti dimostrano che formulazioni inalabili di Ga(III) possiedono proprietà anti-*P. aeruginosa* e aumentano in maniera significativa la fagocitosi di *P. aeruginosa* da parte di macrofagi umani. Gli studi *in vivo* hanno dimostrato che la somministrazione di una formulazione inalabile (denominata Ga\_Man\_NEM) ha un effetto protettivo sulla sopravvivenza di topi affetti da polmonite indotta da *P. aeruginosa* con un effetto marcatamente superiore a Ga(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> attualmente usato in studi clinici.

**Conclusioni** - Gli studi *in vitro* dimostrano che le formulazioni inalabili di Ga(III) sono in grado d'inibire la crescita di *P. aeruginosa* e aumentare la risposta immunitaria dell'ospite incrementando la fagocitosi di *P. aeruginosa* da parte dei macrofagi. Gli esperimenti *in vivo* hanno consentito di dimostrare l'efficacia e la superiorità della formulazione inalabile Ga\_Man\_NEM rispetto a Ga(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> nelle infezioni polmonari causate da *P. aeruginosa*. Questo studio preclinico rafforza l'aspettativa di un futuro impiego delle formulazioni inalabili di Ga(III) nel trattamento dell'infezione polmonare da *P. aeruginosa* nei pazienti FC.

### 23. Exploring the dual targeting of host and microbial sphingosine-1-phosphate lyase as antimicrobial strategy in cystic fibrosis

Costantini C<sup>1</sup>, Pariano M<sup>1</sup>, Pampalone G<sup>1</sup>, Zelante T<sup>1</sup>, Macchioni L<sup>1</sup>, Galarini R<sup>2</sup>, Camaioni E<sup>3</sup>, Paoletti F<sup>2</sup>, Costanzi E<sup>1</sup>, Davidescu M<sup>1</sup>, Stincardini C<sup>1</sup>, Bellet M<sup>1</sup>, Saba J<sup>4</sup>, Giovagnoli S<sup>3</sup>, Romani L<sup>1</sup>, Cellini B<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Medicine and Surgery, University of Perugia, Perugia, Italy, <sup>2</sup>Centro Sviluppo e Validazione Metodi, Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche "Togo Rosati", Perugia, Italy, <sup>3</sup>Department of Pharmaceutical Sciences, University of Perugia, Perugia, Italy, <sup>4</sup>Department of Pediatrics, University of California San Francisco, San Francisco, USA (FFC#16/2020, pilot project concluded – FFC#19/2021, extension)

**Background and hypothesis** - The lung function decline in cystic fibrosis (CF) patients is caused by a vicious cycle of defective CFTR function, inflammation, and infection. Thus, the development of antimicrobial and anti-inflammatory drugs should progress in parallel, ideally by targeting a common pathway in the host and the pathogen, such as the fungus *Aspergillus fumigatus*.



Barbara Cellini

**Rationale and objectives** - The enzyme sphingosine-1-phosphate (S1P) lyase (SPL) catabolizes S1P in host and microbes. CF patients show defects in sphingolipid metabolism and administration of an SPL inhibitor to a mouse model of CF ameliorated the inflammatory response. Conversely, high S1P levels may exert toxic effects in fungi. Thus, dual-host and *Aspergillus*-SPL inhibitors are expected to potentiate the antifungal response.

**Essential methods** - Two known SPL inhibitors, A6770 and compound 31, were chosen based on *in silico* simulations supporting a potential binding to *A. fumigatus* SPL, and tested with purified human and fungal SPL. Their effects were then measured *in vitro* in cultures of *A. fumigatus* alone or in co-culture with human bronchial epithelial cells (HBE) from CF patients, and *in vivo* in a murine model of CF with aspergillosis.

**Results** - Compound 31 inhibited the activity of human, but not fungal, SPL. Accordingly, treatment with D-erythro-sphingosine, an S1P precursor, but not the two inhibitors, exerted a fungistatic effect *in vitro*. A6770 reduced fungal colonization and lung pathology in a CF murine model with aspergillosis, however the efficacy was similar to a siRNA against murine SPL, confirming the selective inhibition of host SPL. Similar results were obtained in HBE cells challenged with *Aspergillus* conidia.

**Conclusions** - Identification of an SPL inhibitor capable of restraining fungal growth and increasing antifungal resistance by binding to pathogen and host SPL is a promising therapeutic approach. Because the tested inhibitors do not appear to be effective against fungal SPL, an *in silico* virtual screening campaign identified 35 candidates currently tested as dual inhibitors.

### Bersaglio terapeutico combinato della sfingosina-1-fosfato-lisasi dell'ospite e del patogeno come strategia antimicrobica nella fibrosi cistica

**Razionale dello studio** - Il deterioramento delle funzioni respiratorie nei pazienti con fibrosi cistica (FC) è causato da un circolo vizioso sostenuto da malfunzionamento di CFTR, infiammazione cronica e infezioni, come per esempio quelle causate dal fungo *Aspergillus fumigatus*. È sempre più chiaro quindi come lo sviluppo di farmaci antimicrobici e antinfiammatori debba procedere di pari passo nei pazienti FC. La soluzione ideale sarebbe individuare un unico farmaco in grado di agire sul paziente con attività antinfiammatoria e sull'agente infettivo con attività antimicrobica.

**Ipotesi e obiettivi** - L'enzima chiamato sfingosina-1-fosfato liasi (SPL), coinvolto nel metabolismo di una classe di lipidi e presente sia nell'ospite che nei microbi, rappresenta un potenziale bersaglio. Infatti, è stato visto che bloccando questo enzima in un modello di topo di FC si ottiene un miglioramento del quadro infiammatorio. Al contrario, il blocco di questo enzima nel fungo ha un effetto tossico.

**Metodi essenziali** - Abbiamo inizialmente testato due molecole già note per la loro capacità di bloccare SPL umano in quanto studi preliminari di simulazione ne avevano predetto un'attività anche sull'enzima del fungo. Abbiamo prima valutato la loro capacità di bloccare l'enzima dell'uomo e del fungo, dopo averne messo a punto la procedura di purificazione. Abbiamo poi misurato la



loro capacità di bloccare la crescita del fungo *in vitro* e di proteggere dall'infezione sia cellule epiteliali bronchiali umane derivate da pazienti FC che un modello di topo di FC.

**Risultati** - Gli esperimenti con gli enzimi purificati hanno mostrato un effetto sull'enzima umano, ma non su quello del fungo. Allo stesso modo, le due molecole non hanno avuto effetto sulla crescita del fungo *in vitro*. Gli studi con le cellule e con il modello di topo hanno evidenziato la capacità delle due molecole di proteggere parzialmente dall'infezione, probabilmente agendo solo sull'enzima dell'ospite, come suggerito dagli esperimenti sugli enzimi purificati e sulla crescita del fungo.

**Conclusioni** - I risultati suggeriscono che l'identificazione di un unico farmaco con attività antinfiammatoria e antimicrobica rappresenta un approccio terapeutico promettente. Poiché gli inibitori testati non sembrano efficaci contro l'enzima del fungo, abbiamo identificato altri 35 potenziali candidati che stiamo testando nei vari modelli a nostra disposizione.



Framing the QR code to reach the presentation of the FFC#19/2021 project

## 24. Can old and new sweet glycomimetics act as antibacterial and antibiofilm agents in the treatment of CF lung disease infections?

Guaragna A<sup>1</sup>, De Gregorio E<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Ingegneria Chimica, dei Materiali e della Produzione Industriale, Università di Napoli Federico II, <sup>2</sup>Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università di Napoli Federico II (FFC#13/2020, ongoing)



Annalisa Guaragna, on the right in the larger picture, and top left Eliana De Gregorio

**Background and hypothesis** - Despite the advances in development of CFTR modulators, these therapies are not available for all CF patients and are not able to reverse lung damage in patients with established disease. Bacterial pathogens such as *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. maltophilia*, *B. cepacia* complex, and nontuberculous mycobacteria are the key players in CF pathology, and particularly in lung function decline, being responsible of chronic airway infections that are difficult to treat with standard antibiotic therapy. Consequently, it would be useful to identify novel compounds, chemically different to the conventional therapeutics, active against the common CF bacteria and able to treat multidrug resistant infections.

**Razionale and objectives** - Iminosugars are sugar analogues endowed with high pharmacological potential. Our previous studies (FFC#22/2015, FFC#23/2018) revealed a promising anti-inflammatory activity of these molecules in CF. Unexpectedly, during our investigations, when evaluated *in vivo*, the iminosugar L-Miglustat showed to be able to decrease the amount of bacteria and to in-

crease bacterial clearance in *P. aeruginosa* chronically infected mice (FFC#20/2019). Based on these findings our aim is to synthesize a small library of L-Miglustat derivatives and to investigate their antibacterial and antibiofilm activity *in vitro* and *in vivo* against the most common CF bacterial pathogens.

**Essential methods** - L-Miglustat derivatives were synthesized with an environmentally friendly and scalable procedure. The compounds were evaluated as growth inhibitors and antibiofilm agents against a panel of Gram positive and negative bacteria by broth microdilution and static microtiter plate assays respectively. Cellular assays were performed to assess safety of compounds. Moreover, the possible ability to correct F508del-CFTR activity were tested on CF bronchial epithelial cells CFBE41o- expressing F508del-CFTR using the halide-sensitive yellow fluorescent protein, HS-YFP.

**Preliminary results** - During this first year of activity, the synthesis and a preliminary *in vitro* evaluation of the synthesized molecules were performed. Some derivatives showed a very promising antibacterial and antibiofilm activity against *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* and some strains of *B. cepacia* complex. In addition, inspired by previously reported results, the compounds were also evaluated as CFTR correctors revealing in one case, a slight increment in the CFTR activity (especially in combination with VX-809, i.e. lumacaftor), even if further studies are required to clarify the observed effect. Cytotoxicity and apoptosis analysis revealed the safety of L-miglustat derivatives in the cell lines considered.

**Conclusions** - Further *in vitro* studies are currently ongoing to deeply explore and widen the promising antibacterial and antibiofilm activity observed, including the effect of these molecules on nontuberculous mycobacteria. Based on these preliminary results we were already able to select at least two promising candidates that will be object of *in vivo* studies in murine models of lung infection. The synthesized compounds are endowed with great therapeutic potential belonging to a class of compounds which in the corresponding D-analogues has already shown interesting therapeutic activities in various fields and above all in the treatment of other rare diseases.

## Studio del potenziale antimicrobico di glicomimetici iminosaccaridici nel trattamento di infezioni polmonari da fibrosi cistica

**Razionale dello studio** - Nonostante i recenti progressi nello sviluppo dei modulatori di CFTR, queste terapie purtroppo non sono valide per tutti i pazienti FC e non sono in grado di risolvere il danno polmonare in pazienti con una malattia in stadio avanzato. Batteri come *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. maltophilia*, *B. cepacia* complex, e i micobatteri non tubercolari hanno un ruolo chiave nella FC e, in particolare, nella compromissione della funzione polmonare, poiché sono responsabili di infezioni croniche spesso resistenti agli antibiotici convenzionali. Da qui l'esigenza di identificare nuovi composti, completamente differenti dai farmaci in uso, che siano in grado di agire contro i più comuni batteri riscontrati nei pazienti FC.

**Ipotesi e obiettivi** - Gli imminozuccheri sono molecole che mimano la struttura degli zuccheri naturali e hanno mostrato un grande potenziale come candidati terapeutici in diverse malattie, inclusa la FC. In particolare, in precedenti progetti (FFC#22/2015, FFC#23/2018) è stato evidenziato che queste molecole possiedono una promettente attività antinfiammatoria in FC. Inoltre, inaspettatamente in questi studi, l'imminozucchero L-Miglustat ha mostrato anche un effetto antibatterico in modelli murini di infezione polmonare da *P. aeruginosa* (FFC#20/2019). Sulla base di tali risultati, questo progetto è volto alla sintesi di una piccola libreria di derivati di L-miglustat e allo studio del loro potenziale antibatterico e antibiofilm in FC esplorando la loro attività sia *in vitro* che *in vivo* nei confronti di batteri più comunemente riscontrati in FC.

**Metodi essenziali** - I derivati di L-Miglustat sono stati sintetizzati attraverso una procedura applicabile su larga scala ed ecosostenibile. I composti sono stati valutati come agenti antibatterici e antibiofilm nei confronti di batteri Gram-positivi e negativi rispettivamente mediante saggi di microdiluzione in brodo e saggi su

piastra di microtitolazione statica. Sono stati eseguiti inoltre saggi cellulari per valutarne la citotossicità. Inoltre, la capacità degli imminozuccheri di agire come correttori dell'attività di F508del-CFTR è stata valutata su cellule bronchiali epiteliali CFBE41o- esprimenti F508del-CFTR e usando il test HS-YFP.

**Risultati preliminari** - Durante questo primo anno di attività è stata effettuata la sintesi di una piccola libreria di L-imminozuccheri e una valutazione preliminare *in vitro* del loro potenziale antibatterico. Alcuni derivati hanno mostrato un'attività antibatterica e antibiofilm molto promettente contro *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* e alcuni ceppi di *B. cepacea* complex. Inoltre, sulla base di risultati precedentemente riportati in letteratura, i composti sono stati valutati anche come correttori di CFTR rivelando, in un caso, un leggero incremento dell'attività CFTR (soprattutto in combinazione con VX-809, i.e. lumacaftor), anche se saranno necessari ulteriori studi per chiarire l'effetto osservato. I derivati di L-Miglustat non hanno mostrato citotossicità né capacità di indurre apoptosi.

**Conclusioni** - Sono attualmente in corso ulteriori studi *in vitro* per validare e ampliare l'interessante e promettente attività antibatterica e antibiofilm osservata, compreso l'eventuale effetto di queste molecole sui micobatteri non tubercolari. Sulla base dei risultati finora ottenuti siamo già stati in grado di selezionare almeno due promettenti candidati che saranno oggetto di studi *in vivo* in modelli murini di infezione polmonare. I composti sintetizzati sono dotati di grande potenziale terapeutico appartenendo a una classe di composti che nei corrispondenti d-analoghi ha già mostrato interessanti attività terapeutiche in diversi ambiti e soprattutto nel trattamento di altre malattie rare.

## 25. Targeting the STING/Transglutaminase 2-regulated Interferon response as a novel host-direct approach to fight bacterial infections in cystic fibrosis

Occhigrossi L<sup>1,2</sup>, Rossin F<sup>1</sup>, D'Eletto M<sup>1</sup>, Esposito S<sup>3</sup>, Vilella VR<sup>3</sup>, Raia V<sup>3</sup>, Piacentini M<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology University of Rome "Tor Vergata", Italy, <sup>2</sup>National Institute for Infectious Diseases IRCCS "L. Spallanzani", Rome, Italy, <sup>3</sup>Regional Cystic Fibrosis Center, Pediatric Unit, Department of Translational Medical Sciences, Federico II University, Naples, Italy (FFC#15/2020, ongoing)



Mauro Piacentini, third from the right, and his lab collaborators

**Background** - Bacterial infections play a pivotal role in infectious diseases such as cystic fibrosis (CF). Innate immunity is the first line of defence to fight microbial pathogens. The STING pathway is the main signalling route activated in the presence of both self and pathogen DNA leading to Type I Interferon (IFN- $\beta$ ) production to trigger immune response. Following STING activation by cGAMP, IRF3 is phosphorylated by TBK1 and translocates into the nucleus to promote IFN- $\beta$  and cytokines production. We demonstrated that the enzyme Transglutaminase type 2 (TG2) is overactivated in patients bearing F508del-CFTR mutation and the genetic ablation or phar-

macological inhibition leads to enhanced anti-microbial response. Interestingly, we found that in absence of TG2 the cGAS/STING pathway is upregulation.

**Rationale and objectives** - The goal of this project is to dissect out the role of STING signaling in CF models with the aim to find new possible targets to develop host-directed therapies. We also aimed to elucidate the TG2-dependent regulation of STING pathway in CF mouse models infected with *P. aeruginosa* and *M. abscessus*, correlating the infection outcome levels with alterations in STING signalling.

**Essential methods** - Bone marrow derived macrophages (BMDM), from F508del-CFTR mice, will be used for the *ex vivo* infections. Moreover, CF mouse models will be used to perform *in vivo* infection experiments. STING and TG2 regulators will be also administered to modulate the STING signaling.

**Results** - We demonstrated by *in vivo* and *in vitro* experiments that the cGAS/STING pathway is not activated in *P. aeruginosa*-infected BMDM as well as in mice carrying the F508del-CFTR mutation. Interestingly, the use of direct STING agonists, as 2',3'-cyclic GMP-AMP (cGAMP), restores immune defence against bacterial colonization. In fact, we found a reduction of colony forming units (CFUs) associated to IFN- $\beta$  enhanced production in BMDM and lung tissues from F508del-CFTR mice.

**Conclusions** - cGAS/STING pathway integrity is crucial for the response against pathogens in F508del-CFTR models. Thus, the restoration of the pathway by cGAMP could be exploited as new possible target for the symptomatic treatment of the disease.

## Usare la proteina STING come bersaglio specifico per combattere le infezioni batteriche nella fibrosi cistica

**Razionale dello studio** - Le infezioni batteriche svolgono un ruolo fondamentale nelle malattie infettive come la fibrosi cistica (FC). L'immunità innata è la prima linea di difesa per combattere i patogeni microbici. Le cellule eucariotiche hanno sviluppato un sistema di controllo del DNA libero nel citoplasma derivante da patogeni o da danni alla cellula regolato dalla via di STING per innescare la risposta immunitaria attraverso la produzione di IFN- $\beta$  e citochine ad azione anti-patogeno. In studi precedenti abbiamo dimostrato che l'enzima transglutaminasi di tipo 2 (TG2) è iperattivato in pazienti portatori della mutazione F508del-CFTR e la sua assenza o inibizione farmacologica è associata a una maggiore resistenza contro le infezioni batteriche. Inoltre, abbiamo scoperto che l'assenza della TG2 porta a una marcata attivazione della via di STING.

**Ipotesi e obiettivi** - Scopo di questo progetto è analizzare il ruolo di STING nei modelli FC con l'obiettivo di trovare nuovi possibili bersagli per sviluppare terapie mirate all'ospite. Vogliamo anche chiarire la regolazione TG2-dipendente della via STING in modelli murini FC infettati da *P. aeruginosa* e *M. abscessus*, correlando i livelli di esito dell'infezione con alterazioni nella segnalazione di STING.

**Metodi essenziali** - Macrofagi derivati dal midollo osseo di topi F508del-CFTR saranno usati per le infezioni. Inoltre, modelli murini di FC verranno usati per eseguire esperimenti di infezione *in vivo*. Verranno anche somministrati regolatori di STING e della TG2 per modulare la via di segnalazione di STING.

**Risultati** - Abbiamo dimostrato *in vivo* e *in vitro* che la via cGAS/STING non è attiva sia nei topi portatori della mutazione F508del-CFTR sia nei macrofagi derivati dal midollo osseo (BMDM) degli stessi animali infetti con *P. aeruginosa*. È interessante notare che l'uso di farmaci agonisti di STING, come GMP-AMP 2',3'-ciclico (cGAMP), è in grado di ripristinare la difesa immunitaria contro la colonizzazione batterica.

**Conclusioni** - In questo studio abbiamo dimostrato che l'integrità della via di segnalazione cGAS/STING è cruciale nella risposta primaria di modelli F508del-CFTR contro i patogeni. Quindi il suo ripristino da parte del cGAMP potrebbe essere sfruttato come nuovo possibile bersaglio per il trattamento sintomatico della malattia.

## 26. Early derangements of glucose tolerance in cystic fibrosis: effect of CFTR modulators

Battezzati A<sup>1</sup>, Bertoli S<sup>1</sup>, De Carlo GM<sup>1</sup>, Foppiani A<sup>1</sup>, Alicandro G<sup>1</sup>, Colombo C<sup>2</sup>, Russo MC<sup>2</sup>, Dacco V<sup>2</sup>, Lucidi V<sup>3</sup>, Ciciriello F<sup>3</sup>, Debiase RV<sup>3</sup>, Montemari AL<sup>3</sup>, Alghisi F<sup>3</sup>, Lucanto MC<sup>4</sup>, Quattromano E<sup>4</sup>, Cristadoro S<sup>4</sup>, Mari A<sup>5</sup>, Bizzotto R<sup>5</sup>, Grespan E<sup>5</sup>

<sup>1</sup>International Center for the Assessment of Nutritional Status, DeFENS, University of Milan, Milan, Italy, <sup>2</sup>Cystic Fibrosis Center, Fondazione Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico Ca' Granda, Ospedale Maggiore Policlinico, University of Milan, Milan, Italy, <sup>3</sup>Unità Operativa Complessa di Fibrosi Cistica, Dipartimento Pediatrie Specialistiche, Ospedale pediatrico Bambino Gesù, Rome, Italy, <sup>4</sup>Unità di Gastroenterologia Pediatrica e Fibrosi Cistica, Azienda Ospedaliera Universitaria Messina, Messina, Italy, <sup>5</sup>Institute of Neuroscience, National Research Council, 27100 Padova, Italy (FFC#24/2019, concluded)



Clockwise from left: Alberto Battezzati, in charge of the project, and the research partners Carla Colombo, Andrea Mari, Maria Cristina Lucanto and Vincenzina Lucidi

**Background and Rationale** - Cystic fibrosis-related diabetes (CFRD) is a frequent and serious complication in cystic fibrosis (CF), caused by defects in insulin secretion. New modulator therapies targeted at CFTR have become available raising hope to prevent or treat CFRD. Current evidence does not support significant effects but several issues have complicated this assessment: the natural history of insulin secretory defects is unclear in early life according to CFTR genotypes, but therapy is offered earlier now than in initial studies and for few mutations.

**Hypothesis and Objectives** - We hypothesize that CFTR modulators can ameliorate insulin secretory defects, but, in previous studies, the endocrine pancreas damage may have been too advanced for therapy to be effective. The objectives: I) to evaluate whether 1-yr modulators treatment ameliorates the insulin secretory, sensitivity and glucose tolerance parameters in 6-11 years old subjects compared to the course of children with the same mutations on conventional therapy; ii) to begin a natural history study in the carriers of mutations still not eligible for modulators.

**Essential methods** - We will initiate a prospective multi-center study of glucose tolerance in a cohort of CF subjects 6-11 yr old using repeated Oral Glucose Tolerance Tests (OGTTs) as previously developed to assess the insulin secretion parameters along with pulmonary, exocrine pancreatic and liver function and nutritional status assessment. Subjects who become eligible to CFTR modulators will be studied at therapy onset. All subjects will repeat the OGTT after 1 yr.

**Preliminary results** - All partners obtained the ethical committee approvals for their own institution. A web-based, centralized, data collection platform was implemented to gather data

from clinical evaluations and laboratory results. We also identified appropriate candidates for the study. The implications of the on-going COVID-19 pandemic, particularly concerning Milan center, have severely limited the opportunities to perform OGTT. Nonetheless, the historical data analysis is still ongoing. Also, we are still performing the clinical follow-up of previously studied patients meeting the inclusion criteria, and of those patients recently recruited. In the late part of the second year of this project, OGTT activities have been resumed.

**Conclusions** - Evaluation of modulators effects on insulin secretory, sensitivity and glucose tolerance parameters and initial description of natural history in patients still not receiving modulators, to provide valuable background data for future therapies assessment. This clinical study will evaluate the effectiveness of therapies targeted to the basic CFTR defect on an important CF complication and will fill gaps in knowledge in its natural history.

## Alterazioni precoci della tolleranza al glucosio in fibrosi cistica: effetti dei modulatori di CFTR

**Problema e ragioni dello studio** - Il diabete in fibrosi cistica (CFRD) è una complicanza frequente e severa causata da un deficit progressivo di secrezione insulinica. Nuovi farmaci, mirati a modulare il difetto genetico di base, sono diventati disponibili nella pratica clinica, aprendo la possibilità di prevenire o trattare il CFRD. Inizialmente non sono emersi effetti netti e mancano i dati nelle prime fasi della vita e per diversi genotipi. Oggi, la terapia con modulatori è offerta per poche mutazioni in età più precoce rispetto agli studi iniziali. Per poter dare una risposta bisogna conoscere al meglio il decorso dei deficit di secrezione insulinica in età precoce.

**Ipotesi e obiettivi** - Ipotizziamo che i farmaci modulatori possano migliorare la secrezione insulinica, ma che nei primi studi la terapia sia stata somministrata in fase troppo avanzata per risultare efficace. Ci poniamo quindi l'obiettivo di valutare se il trattamento con i modulatori può migliorare la secrezione insulinica in pazienti più giovani, dai 6 agli 11 anni, rispetto al decorso di chi non ha ancora l'opportunità di ricevere questi farmaci, anche perché portatore di mutazioni per cui non vi è ancora indicazione.

**Metodi essenziali** - Useremo il carico orale di glucosio (OGTT) come metodo sperimentale (già indicato come screening annuale dalle linee-guida) per identificare le alterazioni di secrezione insulinica e lo ripeteremo a distanza di un anno in tutti i bambini dai 6 ai 12 anni afferenti ai centri coinvolti. I pazienti per cui è indicata la terapia ma sono ancora in attesa e i pazienti con mutazioni per cui non vi è ancora indicazione verranno inclusi ugualmente e se ne valuterà presenza e decorso naturale dei deficit secretori.

**Risultati preliminari** - Dopo le approvazioni dei Comitati Etici interessati, è stata implementata una piattaforma informatica centralizzata che permette l'inserimento dei dati clinici e di laboratorio e sono stati identificati potenziali candidati per lo studio. Le problematiche connesse all'emergenza da COVID-19, particolarmente severe in area milanese, hanno limitato la possibilità di realizzare OGTT mentre è proseguita comunque l'analisi di dati storici e il follow-up clinico dei soggetti in questa classe di età precedentemente studiati o recentemente reclutati in attesa di OGTT. Nel secondo anno è ripresa l'attività di reclutamento ed esecuzione di OGTT.

**Conclusioni** - Lo studio mira a comprendere se i nuovi farmaci modulatori hanno un effetto sulle alterazioni che portano al diabete in FC e di aumentare le conoscenze sulle fasi precoci della sua storia naturale. Questo permetterà la valutazione dell'efficacia dei modulatori nel prevenire i meccanismi di diabete e il chiarimento del suo decorso naturale per una migliore valutazione dell'effetto delle terapie future.

## 27. Standardized Ventilation Inflammation Perfusion and Structure (VIPS) MRI platform for monitoring cystic fibrosis lung disease

Morana G, Ciet PL, Ros M, Colzani G, Mamprin G, Comello I, Moschi S, Mazzaro A, Bertolo S

Ospedale Ca' Foncello, Dip. Radiologia Diagnostica e Interventistica, Treviso (FFC#26/2019, concluded)



Giovanni Morana, third from left, and his collaborators

**Razionale** - Fourier Decomposition Magnetic Resonance Imaging (FD-MRI) is a novel technique that allows obtaining pulmonary perfusion and ventilation images without intravenous and gaseous contrast agents. FD-MRI could provide new outcomes measures for the monitoring of Cystic Fibrosis Lung Disease (CFLD). Before introducing FD-MRI in CF clinical practice, we need to validate this technique against standard as Computed Tomography (CT) and with perfusion MRI techniques (CEMRI). The final goal of this validation plan is to develop an MRI protocol that provide information about ventilation, inflammation, perfusion and structure (VIPS-MRI) in a single examination of 30 minutes.

**Hyphotesis and Objective** - Primary: to validate a new MRI protocol without contrast medium to obtain functional and structural information to compare to CT and CEMRI. Secondary: to develop the VIPS MRI platform.

**Essential methods** - 80 patients with CF scheduled for their periodical CT will be asked to participate. Participation will entail a VIPS-MRI scan, performed the same day of the CT scan or within a week. A subgroup of patients will include patients with pulmonary exacerbations (n=20) and hemoptysis (n=10): they will undergo CEMRI. Patients with respiratory tract exacerbation will repeat the VIPS-MRI protocol after medical treatment. The main parameters assessed will be: amount of Low Intensity Regions (LIR) quantified on end-expiratory MR images, Ventilation defect (VD) on ventilation map and volume of Low Attenuation Regions (LAR) quantified on end-expiratory CT images (CF patients only), all expressed as % of the total lung volume. The primary study parameters will be compared and correlated to clinical outcomes, such pulmonary function tests and quality of life questionnaires.

**Preliminary results** - The VIPS-MRI protocol has been optimized, and consists of morphological acquisitions, such as VIBE breath-hold and free-breathing SPIRAL-VIBE and BLADE. Functional acquisitions includes Diffusion weighted imaging MRI, FD-MRI and CEMRI. To date, 59 patients were enrolled in the study, including n=6 with pulmonary exacerbations. We expect to complete data collection in May 2022. We are currently optimizing the imaging protocol to harmonize image quality between different MRI brands. To date the protocol for harmonization of image quality between different GE scanners has been finalized. This protocol will be extended to Siemens and Philips scanners in the coming months.

**Conclusions** - The data derived from the VIPS-MRI protocol have the potential to improve clinical understanding and manage-

ment of CF patients. The new VIPS MRI protocol may improve detection and quantification of structural and functional abnormalities in CF patients both during exacerbation and monitoring.

## Standardizzazione di un protocollo di imaging con risonanza magnetica (MRI) per lo studio di ventilazione, infiammazione, perfusione e struttura al fine di migliorare il monitoraggio della patologia polmonare FC

**Ragioni dello studio** - La Fourier Decomposition è una nuova tecnica di risonanza magnetica (FD-RM) che consente di ottenere informazioni su perfusione e ventilazione polmonare senza mezzo di contrasto. La FD-RM potrebbe fornire nuovi risultati per il monitoraggio della malattia polmonare da fibrosi cistica (CFLD). Prima di introdurre la FD-RM nella pratica clinica, è necessario convalidare questa tecnica confrontandola con la tomografia computerizzata (TC) e con lo studio di perfusione RM con mezzo di contrasto (CE-RM). L'obiettivo finale di questo progetto è quello di sviluppare un protocollo di risonanza magnetica in grado di fornire informazioni sulla ventilazione, infiammazione, perfusione e struttura (VIPS-RM) del polmone in un unico esame di 30 minuti.

**Ipotesi e Obiettivi** - L'obiettivo primario p convalidare un nuovo protocollo risonanza magnetica senza mezzo di contrasto per ottenere informazioni funzionali e strutturali da comparare con CE-RM e TC. L'obiettivo secondario è sviluppare la piattaforma VIPS-RM.

**Metodi essenziali** - In tutto verranno inclusi nello studio 80 pazienti che devono eseguire il controllo TC periodico. I partecipanti vengono sottoposti allo studio VIPS-RM nello stesso giorno della TC o entro una settimana. Un sottogruppo di pazienti con esacerbazione polmonare (n=20) ed emottisi (n=10) esegue anche una CE-RM. I pazienti con esacerbazione ripetono l'esame VIPS-RM dopo il trattamento antibiotico. I principali parametri valutati saranno: estensione delle aree a bassa intensità di segnale (LIR) quantificate su immagini risonanza magnetica a fine espirio, difetto di ventilazione (DV) sulla mappa di ventilazione, estensione delle aree a bassa densità (LAR) quantificate su immagini TC a fine espirio, tutte espresse in percentuale sul volume totale polmonare. I parametri saranno confrontati e correlati ai risultati clinici, come test di funzionalità polmonare e questionari sulla qualità della vita.

**Risultati preliminari** - Il protocollo VIPS-RM è stato ottimizzato e consiste di acquisizioni morfologiche, come SPIRAL VIBE e BLADE, e acquisizioni funzionali, come risonanza magnetica pesata in diffusione, FD-RM e CE-RM. A oggi, nello studio sono stati coinvolti 59 pazienti, 6 dei quali con esacerbazione polmonare. Si stima che la racconta dati si concluderà a maggio 2022. Stiamo tuttora ottimizzando il protocollo per l'armonizzazione della qualità d'immagine tra diversi brand di risonanza magnetica. Al momento, è stato messo a punto un protocollo per standardizzare la qualità delle immagini tra differenti scanner GE. Tale protocollo verrà esteso anche a scanner Siemens e Philips nei prossimi mesi.

**Conclusioni** - I dati derivati dal protocollo VIPS-RM hanno il potenziale per migliorare la comprensione e la gestione clinica di pazienti con CFLD sia nella fase di monitoraggio che nella fase acuta. Il nuovo protocollo VIPS-RM potrà migliorare il riconoscimento e la quantificazione delle anomalie strutturali e funzionali nei pazienti con CFLD.

## 28. Right ventricle dysfunction in cystic fibrosis patients undergoing lung transplant

Scaravilli V

Dipartimento di Anestesia, Rianimazione ed Emergenza Urgenza, Fondazione IRCCS Ca' Granda - Ospedale Maggiore Policlinico, Milano (FFC#27/2019, ongoing)



Vittorio Scaravilli

**Background and hypothesis** - Persons with cystic fibrosis (CF) have subclinical right ventricle (RV) dysfunction. During lung transplantation (LUTX), pulmonary artery cross-clamping, hypoxia, and hypercapnia may lead to pulmonary hypertension, RV failure, and shock. In this scenario, emergent intraoperative extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) is lifesaving but associated with postoperative cardiac failure and primary graft dysfunction. Echocardiographic RV strain has been recently described as an accurate, non-invasive index of RV dysfunction but has never been evaluated in FC patients. Levosimendan is a calcium-sensitizer drug used for cardiac failure, capable of improving RV function.

**Rationale and objective** - We hypothesize that in CF patients undergoing LUTX: 1) preoperative RV strain is predictive of intraoperative RV failure; 2) in patients with RV dysfunction, preoperative levosimendan is effective in reducing RV strain and limiting RV failure.

**Essential methods** - This study is composed of: 1) a prospective observational study to evaluate RV strain throughout all the perioperative period of CF patients undergoing LUTX; 2) a prospective interventional trial to evaluate the efficacy of preoperative levosimendan in reducing RV strain in patients at higher risk for intraoperative right ventricle failure.

**Preliminary results** - At the moment of this writing, patients' recruitment has commenced but slowed by the COVID-19 pandemic. Thus, the study has received an amendment for a further 1-year period. In addition, we decided to strengthen the study's rationale with a retrospective study analyzing the RV function of CF adults awaiting LUTX at our Center. We included 49 patients (25 male, 29±9 y.o.) with FEV1 31±11% predicted, Lung Allocation Score 36±5; with normal invasive mean pulmonary artery pressure (i.e., 17±5 mmHg). Com-

pared to standards, patients had increased RV end-diastolic area and RV wall thickness, with subnormal systolic function indexes (i.e., Tricuspid Annular Plane Systolic Excursion -TAPSE, tissue Doppler positive peak systolic wave velocity -S', Fraction Area Change-FAC) and pulmonary artery acceleration time (Table 1). Moreover, subnormal FAC (<49%), TAPSE (<23 mm) and S' (<14cm/sec) had high sensitivity and negative predictive value, with low specificity and positive predictive value in predicting right ventricle dysfunction (RVEF<40%), as measured by cardiac radionuclide ventriculography.

**Conclusions** - CF adults awaiting LUTX have minimal morphologic alterations of the right heart with slightly impaired RV systolic function without overt pulmonary hypertension. Therefore, echocardiography may be helpful as a screening tool in detecting patients with RVEF<40%. Development of a new accurate non-invasive repeatable index for identifying patients at high risk for intraoperative RV failure is ongoing.

## Disfunzione del ventricolo destro in pazienti con fibrosi in lista per trapianto di polmone

**Razionale dello studio** - Alcune persone con fibrosi cistica (FC) hanno disfunzione delle camere destre del cuore. Tale alterazione è generalmente asintomatica nella vita comune dei pazienti FC, ma può complicare il decorso perioperatorio del trapianto di polmone, aumentando il rischio d'uso della circolazione extracorporea (ECMO). Per quanto l'ECMO sia una procedura salvavita, il suo uso è associato a un aumentato rischio di disfunzione cardiaca e rigetto. La misura dello *strain* del ventricolo destro è una nuova tecnica ecografica non invasiva che potrebbe essere usata per fare diagnosi precoce di disfunzione cardiaca destra. Una trattamento precoce con un farmaco innovativo (levosimendan) potrebbe migliorare il percorso perioperatorio dei pazienti più a rischio.

**Ipotesi e obiettivi** - Lo scopo del nostro studio è valutare se: 1) la misura ecografica dello *strain* sia capace di riconoscere precocemente i pazienti ad alto rischio di disfunzione del ventricolo destro durante trapianto e 2) se un trattamento precoce con levosimendan possa evitare tali complicanze nei pazienti più a rischio.

**Metodi essenziali** - In una prima fase dello studio misureremo lo *strain* del ventricolo destro durante il percorso perioperatorio dei pazienti con FC sottoposti a trapianto (prima, durante e dopo il trapianto). Quindi, l'efficacia del trattamento con levosimendan verrà valutata in un gruppo selezionato di pazienti ritenuti ad alto rischio.

**Risultati preliminari** - Allo stato attuale, il reclutamento dei pazienti è iniziato ma è stato rallentato dalla pandemia COVID-19. Abbiamo quindi condotto uno studio retrospettivo per rafforzare il razionale dello studio, analizzando retrospettivamente la funzione del ventricolo destro con tecniche ecografiche avanzate. Sono stati reclutati 49 pazienti senza sintomatologia e/o alterazioni cardiologiche di sorta. L'ecografia preoperatoria di questi pazienti ha evidenziato un aumento delle dimensioni e una riduzione della contrattilità del ventricolo destro.

**Conclusioni** - I pazienti adulti con FC hanno una alterazione

Table 1. Echocardiography of CF patients awaiting LUTX

	Normal	Measured	p-value
Right atrium area/BSA (cm <sup>2</sup> /m <sup>2</sup> )	8,3 ± 0,1	6,7 ± 1,8	< 0,001
Right Ventricle end-diastolic area/BSA (cm <sup>2</sup> /m <sup>2</sup> )	8,4 ± 1,8	9,5 ± 1,8	0,001
Right Ventricle basal diameter (mm)	33,0 ± 4,5	32,4 ± 4,8	0,492
Right Ventricle wall thickness (mm)	3,0 ± 1,0	4,6 ± 1,1	< 0,001
Right Ventricle Fractional Area Change (%)	49 ± 7	44,8 ± 9,8	0,002
Tricuspid Annular Plane Systolic Excursion (mm)	23,0 ± 3,5	19,9 ± 3,5	< 0,001
Pulmonary Artery Acceleration Time (ms)	130 ± 20	96,7 ± 23,6	< 0,001
S' vel RV (cm/s)	15,0 ± 2,5	11,4 ± 2,0	< 0,001
PAPs (mmHg)		29 (24-38)	

morfologica e funzionale del ventricolo sinistro senza apparenti sintomi clinici. Lo studio dello *strain* del ventricolo destro potrebbe permettere di individuare i pazienti ad alto rischio di disfunzione cardiologica nel periodo perioperatorio del trapianto di polmone; un loro trattamento con levosimendan potrebbe permettere il loro trattamento preventivo.

## 29. Use of multivolume MRI to assess response to CFTR modulators

Aliverti A

Politecnico di Milano, Dip. di Elettronica, Informazione e Bioingegneria (FFC#21/2020, concluded)



Andrea Aliverti, in charge of the project, and Francesca Pennati, research collaborator

**Background and rationale** - New molecular therapies for CF are intended to restore CFTR function by the correction of protein misfolding or potentiation of defective channel gating. In clinical studies, CFTR modulation therapies have been shown to improve lung function, pulmonary exacerbations, and symptoms of CF. In these studies, pulmonary outcomes were assessed using traditional spirometry, but more sensitive outcome measures are needed to monitor local changes of lung structure and function. Recently, biomarkers of regional ventilation from conventional proton magnetic resonance imaging (MRI) acquired at different lung volumes demonstrated sensitivity to ventilation impairment and a strong correlation with spirometry and multiple breath washout (MBW).

**Hypothesis and objectives** - We propose to explore the feasibility of multivolume MRI to detect changes in lung structure and function in patients treated with ivacaftor/lumacaftor and to investigate the sensitivity of multivolume MRI to therapy compared to spirometry.

**Essential methods** - We retrospectively collected data (MRI, spirometry and MBW) of patients treated with CFTR modulators starting from 2016 up to 2020 at the Lombardia Region CF Centre, University of Milan, Fondazione IRCCS Ca' Granda, Ospedale Maggiore Policlinico. Inclusion criteria: subjects over 6 years who underwent MRI before and during CFTR modulator therapy. Exclusion criteria: common MRI contraindications including claustrophobia, pacemaker, or other medical device implants.

**Results** - Overall, a total of 25 persons with CF (15 males/ 10 females) who received ivacaftor/lumacaftor have been selected from our database. All patients had both baseline and follow-up MRI scans, with a total number of MRIs equal to 157. At baseline, FEV1 was 71% and FEF25-75 was 33%. Percent increase of FEV1 at month 1 was 10.5% and at month 12 was 0.5%. Percent increase of FEF25-75 at month 1 was 21.5% and at month 12 was 3.2%. Changes in MRI-derived ventilation correlated with changes in FEV1 and changes in FEF 25-75 (respectively,  $r=0,40$  and  $r=0,39$ ,  $p<0.01$ ).

**Conclusions** - Results demonstrated a good agreement between changes in multivolume MRI biomarkers and changes in spirometry during ivacaftor/lumacaftor therapy. MRI may represent a radiation-free imaging technique for longitudinal monitoring and quantification of individual response to treatment.

## Uso della risonanza magnetica per studiare gli effetti della terapia con modulatori di CFTR

**Razionale dello studio** - Le nuove terapie molecolari per la fibrosi cistica (FC) hanno lo scopo di recuperare in parte la funzione della proteina CFTR. Negli studi clinici, le terapie con i modulatori di CFTR hanno dimostrato di migliorare la funzione polmonare, le esacerbazioni polmonari e i sintomi della FC. In questi studi, l'effetto dei modulatori di CFTR è stato valutato utilizzando la spirometria tradizionale, che è però insensibile alle alterazioni locali del polmone. Recentemente, è stato proposto l'uso della risonanza magnetica (RM) per ottenere dei marcatori sensibili ad anomalie locali di ventilazione, che si sono dimostrati fortemente correlati con gli indici di spirometria.

**Ipotesi e obiettivi** - L'obiettivo di questo progetto è determinare se sia possibile rilevare cambiamenti locali del polmone con la risonanza magnetica in pazienti trattati con modulatori CFTR, confrontando la sensibilità di questa nuova tecnica alla terapia rispetto alle misure convenzionali di spirometria.

**Metodi essenziali** - Abbiamo raccolto i dati dei pazienti trattati con modulatori CFTR presso il Centro FC della Regione Lombardia, Università degli Studi di Milano, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico di Milano, dal 2016 al 2020. Criteri di inclusione: soggetti di età superiore a 6 anni che si sono sottoposti a RM prima e durante la terapia. Criteri di esclusione: controindicazioni alla RM incluse claustrofobia, pacemaker o altri dispositivi medici impiantabili.

**Risultati** - In tutto sono stati selezionati dal nostro database 25 persone con FC che sono stati trattati con ivacaftor/lumacaftor. Tutti i pazienti selezionati hanno una scansione RM acquisita all'inizio e almeno una scansione acquisita durante il trattamento, per un totale 157 scansioni RM. All'inizio del trattamento, il FEV1 medio era 71% e il FEF25-75 era 33%. L'incremento percentuale di FEV1 rispetto al valore iniziale è stato di 10,5% al mese 1 e di 0,5% al mese 12. L'aumento percentuale di FEF25-75 è stato di 2,5% al mese 1 e di 3,2% al mese 12. Le variazioni di ventilazione calcolate con la RM sono correlate con le variazioni di FEV1 e di FEF25-75.

**Conclusioni** - I risultati hanno dimostrato che le variazioni di ventilazione osservate sulla RM concordano con le variazioni degli indici di spirometria durante la terapia con ivacaftor/lumacaftor. La risonanza magnetica potrebbe rappresentare una tecnica più precisa per il monitoraggio della risposta individuale al trattamento.

## 30. Role of viable but non culturable (VBNC) bacterial forms in CF patients in a clinical setting: a translational research

Cirilli N<sup>1</sup>, Mangiaterra G<sup>2</sup>, Gesuita R<sup>3</sup>, Tiano L<sup>2</sup>, Fabrizzi B<sup>1</sup>, D'Antuono A<sup>1</sup>, Peruzzi A<sup>1</sup>, Cedraro N<sup>2</sup>, Carle F<sup>3</sup>, Moretti M<sup>4</sup>, Ferrante L<sup>3</sup>, Skrami E<sup>3</sup>, Biavasco F<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Cystic Fibrosis Centre, Department of Gastroenterology and Transplantation, United Hospitals, Ancona, Italy, <sup>2</sup>Dept of Life and Environmental Sciences/Polytechnic University of Marche, Ancona, Italy, <sup>3</sup>Biostatistica e Informatica Medica, Dipartimento di Scienze Biomedica e Sanità Pubblica, Università Politecnica delle Marche, Ancona, Italy, <sup>4</sup>Clinical Laboratory United Hospitals, Ancona (FFC#22/2020, ongoing)

**Background and hypothesis** - Chronic lung infections in cystic fibrosis (CF) patients are characterized by periods of stability interspersed by pulmonary exacerbations. Not all CF patients with a documented chronic lung infection show the same bacteria in the sputum in a long term follow up. Culture-independent community profiling of bacterial strains involved in CF lung disease resulted more reliable than culture-dependent profiling. Recent studies discovered the presence of viable but non culturable (VBNC) forms in the lungs of CF patients.



Natali Cirilli (second from left in the big picture) and the research partners Luca Tiano and Rosaria Gesuita (top left and top right respectively)

**Rationale and objectives of the project** - 1. To investigate the presence of VBNC forms in sputum samples of CF patients with chronic lung infection, 2. To compare the clinical outcomes and the presence of VBNC forms

**Essential methods** - Sputum samples (SS) collected at routine visits (every 2-3 months) from CF patients in follow-up have been analysed using qPCR to detect *Pseudomonas aeruginosa* (PA), *Achromobacter xylosoxidans* (AX), *Stenotrophomonas maltophilia* (SM), methicillin sensitive (MSSA) and resistant (MRSA) *Staphylococcus aureus* VBNC forms.

**Results** - 100 patients enrolled: 2 drop outs (1 pt died; 1 pt lost to follow-up). 168 sputum samples (SS) have been collected till October 2021. 85 SS from 61 patients exhibited the following trend:

	VBNC (n)	Sputum culture (n)
PA	51	46
MSSA	16	41
MRSA	17	8
SM	7	3
AX	12	7

- 9 SS (from 7 patients) showed neg- culture but pos+ VBNC. 1/17 patient who started CFTR modulator therapy during this study showed neg- culture and pos+ qPCR Results - 74/98 patients have chronic lung infection for at least 1 of the 5 bacteria under study: 6/74 showed positive qPCR and negative culture.

Of interest: - one pt showed initial negative AX culture with pos+ AX VBNC that shifted to pos+ AX culture after intravenous (iv) carbapenems and aminoglycosides that resulted effective against PA and MSSA.

**Conclusions** - These preliminary results are indicative that antibiotic iv therapy is effective only against culturable pathogens; conversely VBNC pathogens can increase during antibiotic iv therapy.

## Ruolo delle forme batteriche vitali ma non coltivabili (VBNC) nei pazienti con fibrosi cistica dal punto di vista clinico

**Razionale dello studio** - Con questo studio si vuole correlare l'andamento clinico dei pazienti FC con infezione polmonare cronica con la presenza di forme VBNC nello sputo.

**Ipotesi e obiettivi** - 1. Indagare la presenza di forme VBNC nello sputo di pazienti FC con infezione cronica polmonare. 2. Correlare dati clinici e presenza di VBNC

**Metodi essenziali** - I campioni di sputo di pazienti arruolati sono stati analizzati con tecniche di biologia molecolare (qPCR) per la presenza di forme VBNC di *Pseudomonas aeruginosa* (PA), *Achromobacter xylosoxidans* (AX), *Stenotrophomonas maltophilia* (SM), *Staphylococcus aureus* meticillino sensibile (MSSA) e resistente (MRSA).

**Risultati** - 98 pazienti in studio e 168 campioni di sputo analizzati a ottobre 2021: 85 da 61 pazienti hanno fornito i seguenti risultati:

	VBNC (n)	Sputum culture (n)
PA	51	46
MSSA	16	41
MRSA	17	8
SM	7	3
AX	12	7

- 9 campioni da 7 pazienti sono risultati negativi all'esame colturale ma VBNC positivi.

- 1/17 pazienti che hanno avviato la terapia con modulatori del CFTR durante questo studio ha mostrato un esame colturale negativo e VBNC positivo. 74/98 pazienti avevano un'infezione cronica per almeno 1 dei 5 batteri studiati: 6/74 sono risultati positivi per VBNC con esame colturale negativo. Interessante il caso di un paziente con iniziale AX VBNC positivo ma colturale negativo per AX e positivo per PA e MSSA; l'esame colturale al termine della terapia endovena (carbapenemi e aminoglicosidi) diretta contro PA e MSSA si è positivizzato per AX.

**Conclusioni** - Questi risultati preliminari indicano che il trattamento antibiotico endovena è efficace solo contro i batteri coltivabili e può indurre forme VBNC.

## 31. Cystic fibrosis screen positive inconclusive diagnosis (CFSPID): an Italian multicenter survey evaluating prevalence, clinical data, management and outcome

Terlizzi V<sup>1</sup>, Tosco A<sup>2</sup>, Claut LE<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Ospedale A. Meyer, Firenze, Centro Fibrosi Cistica, <sup>2</sup>Università degli Studi di Napoli Federico II, Dip. di Scienze mediche traslazionali, <sup>3</sup>Centro Regionale FC, Fondazione IRCCS Ca' Granda - Ospedale Maggiore Policlinico, Milano (FFC#24/2020, ongoing)



Clockwise from the left: Vito Terlizzi, in charge of the project, and the partners Antonella Tosco, Rita Padoan and Laura Claut

**Background** - A high frequency of infants with a cystic fibrosis (CF) Transmembrane Conductance Regulator (CFTR)-related Metabolic Syndrome, Screen Positive, Inconclusive Diagnosis (CRMS/CF-

SPID) has been recently reported in Italian population, with a considerable variability in the evaluation and management. Data on the long-term outcome are missing. Furthermore it is crucial to evaluate the psychological impact of communication of an inconclusive diagnosis on children's families.

**Objectives** - i) To evaluate the number of definitive diagnosis after a longer follow up and performing sweat test every 6 months and the clinical characteristics of CRMS/CFSPID converted to CF; ii) to highlight and quantify the psychological impact on the parents of CRMS/CFSPID.

**Methods** - Data of CRMS/CFSPID born from 01.01.2011 to 31.08.2018 (retrospective phase of FFC#30/2018), with a label of CRMS/CFSPID (N=271) or CFTR-RD (N=4) or CF diagnosis (N=18) at 31.08.2018 will be collected from 01.09.2018 to 31.12.2021. Likewise, it will be done for infants born in the period 01.09.2018-31.12.2019 (prospective phase of FFC#30/2018) and with inconclusive diagnosis (N=35) or CF diagnosis (N=6) at 30.06.2020. We excluded children with definitive diagnosis of healthy subjects or healthy carriers. Furthermore, an assessment of the psychological impact on the families of CRMS/CFSPID will be assessed through a questionnaire and compared with that of parents of CF children.

**Preliminary results** - The data collection of CRMS/CFSPID subjects is currently underway. A qualitative and quantitative study comparing the psychological impact on parents was carried out for 16 CRMS/CFSPID and 16 CF patients born in 2019-2020 and followed at 4 CF Regional Centers. We used three tests as quantitative tool (Generalized Anxiety Disorder Scale, GAD-7; the Patient Health Questionnaire-9, PHQ-9; the Italian version of the Impact of Event Scale - Revised, IES-R) and a semi-structured interview as qualitative tool. The experiences of anxiety (GAD-7) and depression values (PHQ-9) were higher in parents of CF children (M=8,4 vs 5,35 and M=5,7 vs 4,1). Similar results were about measurement of the traumatic impact (IES-R): the avoidance (M=1,9 vs 1,8), intrusiveness (M=2,2 vs 1,9) and hyperarousal (M=2,3 vs 1,8) subscales. Furthermore, both parents of CRMS/CFSPID and CF patients considered early to think about the future communication of the child's diagnosis and evaluated the child's health condition as close to being completely healthy.

**Conclusions** - Our preliminary results highlight a negative psychological impact of a CRMS/CFSPID label on parents, with an emotional and affective representation similar to that of CF parents. The perception of disease severity is different, with a tendency to normalization for CF parents and to underestimate future progression of a CF diagnosis in CRMS/CFSPID parents. The results of our work will get more information to determine the best practices for management of CRMS/CFSPID based on a longer follow up.

## Diagnosi inconclusiva di fibrosi cistica da screening neonatale positivo (CFSPID): studio osservazionale multicentrico per valutare prevalenza, dati clinici, gestione e outcome in sei centri italiani di riferimento regionale

**Ragioni del progetto** - In Italia, la frequenza di soggetti con screening neonatale positivo ma diagnosi di fibrosi cistica non conclusiva (CFSPID) è molto alta. Poco è noto sulle caratteristiche cliniche dopo un prolungato follow up. Inoltre mancano informazioni sull'impatto psicologico di una diagnosi non conclusiva sulle famiglie dei soggetti CFSPID.

**Obiettivi principali** - i) Proseguire la raccolta dati nei soggetti arruolati nel progetto FFC#30/2018, ora concluso; ii) quantificare l'impatto psicologico della comunicazione di diagnosi inconclusiva nei genitori delle persone CFSPID, confrontandolo con quello delle famiglie dei bambini con fibrosi cistica (FC).

**Materiali e metodi** - Continuare la raccolta dati iniziata nel progetto FFC#30/2018, su soggetti CFSPID (n=306), con patologia CFTR correlata (n=4), o diagnosi di FC (n=24). Valuteremo la percentuale di diagnosi definitive e lo sviluppo di complicanze al 31.12.2021 in una casistica numericamente importante (>330 soggetti). Inoltre abbiamo proposto alle famiglie dei soggetti CFSPID e dei pazienti FC, nati nello stesso periodo, la compilazione di più questionari, oltre a effettuare una intervista al fine di quantificare e confrontare l'impatto psicologico della comunicazione di diagnosi.

**Disegno dello studio** - Nei prossimi mesi raccoglieremo attraverso i centri di cura i dati dei soggetti CFSPID, CFTR-RD (CFTR-Related Disease) o FC arruolati, fino al 31.12.2021. I dati verranno poi analizzati a livello statistico. Una psicologa dedicata al progetto coordinerà la raccolta dati e i risultati emersi sia dalle interviste alle famiglie sia dalla compilazione dei questionari.

**Risultati attesi** - Ci aspettiamo emerga un maggior numero di diagnosi definitive (FC, CFTR-RD, portatore o soggetto sano) al 31.12.2021 effettuando il test del sudore ogni 6 mesi e uno studio genetico completo. Un più lungo follow up ci permetterà di valutare la frequenza delle complicanze nei soggetti arruolati e l'andamento clinico dei soggetti CFSPID progrediti in diagnosi di FC. Risultati preliminari ottenuti dall'analisi dei questionari e delle interviste effettuate a 16 pazienti FC e 16 soggetti CFSPID nati nel biennio 2019-2020 ha fatto emergere un impatto psicologico negativo, simile nei due gruppi di soggetti. È invece diversa la percezione di malattia: i genitori dei pazienti FC tendono a considerare il proprio bambino un soggetto "sano", mentre quelli dei soggetti CFSPID sottostimano il rischio di evoluzione malattia.

## INFECTIONS: P. AERUGINOSA

### 32. Pharmacological inhibition of colistin resistance in gram-negative cystic fibrosis pathogens

Ascenzioni F<sup>1</sup>, Imperi F<sup>2</sup>, Botta B<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dip. Biologia e Biotecnologie C. Darwin, Università La Sapienza, Roma, <sup>2</sup>Dip. Scienze, Università Roma Tre, <sup>3</sup>Dip. Chimica e Tecnologia del Farmaco, Università La Sapienza, Roma (FFC#15/2019, concluded - FFC#12/2021, extension)

**Background, problem, hypothesis** - The emergence of multi-drug resistant Gram-negative pathogens led to the increased use of polymyxins, colistin and polymyxin B, as last-resort antibiotics. Colistin targets the bacterial outer membrane (OM) by electrostatic interactions, which in turn cause OM disruption and cell death. Gram-negative bacteria may resist to colistin by reducing the negative charge of OM or, in the most extreme cases, by eliminating the OM. *P. aeruginosa* blocks colistin activity by activating a specific modification of the lipopolysaccharides (LPS), which consists in the addition of 4-amino- L-arabinose on lipid A.



Fiorentina Ascenzioni, second from the right, with her lab researchers

**Rationale and objectives** - Using a structure-guided in silico approach we have identified a potential inhibitor of ArnT, which catalyses the last step of lipid A aminoarabinylation. This compound, named BBN149, reverts colistin resistance in *P. aeruginosa* isolates,



also from CF origin. Additionally, we have identified the ent-beyerane scaffold as privileged platform for further development of ArnT inhibitors. Based on these findings we aim to develop: i) optimized inhibitors of *P. aeruginosa* colistin resistance based on the ent-beyerane scaffold; ii) nano-vehicles formulations yielding inhalable dosage forms to deliver the compounds to the CF lungs.

**Essential methods** - A library of ent-beyerane diterpens will be produced by computational protocols, also based on homology model of *P. aeruginosa* ArnT. The resulting molecules will be synthesized by sustainable, low cost, green, and scalable procedures. Compounds activity will be determined by *in vitro* ArnT-binding studies and conventional microbiological methods. Microfluidic or thin lipid film hydration techniques will be used to produce liposome-based delivery systems.

**Preliminary results** - In the first project we have designed and synthesized derivatives of lead compound BBN149 which allowed the identification of the ent-Beyerane diterpenes as a key platform for the development of ArnT inhibitors. In particular, molecular modelling and chemical synthesis led to the production of 15 BBN149-derivatives, one of which showed improved potency respect to BBN149. Additionally, ArnT from *P. aeruginosa* was produced and purified to study the binding of the resulting compounds to ArnT.

**Conclusions** - We have identified a chemical scaffold, the ent-Beyerane diterpene for further development of ArnT inhibitors to be used as colistin adjuvants in the reversal of colistin resistance in *P. aeruginosa*. Additionally, nano-vehicles will be developed for the efficient delivery of these compounds to the CF lungs.

## Inibizione farmacologica della resistenza alla colistina nei patogeni Gram-negativi della fibrosi cistica

**Problema e ragioni dello studio** - La colistina interagisce con la membrana esterna dei batteri Gram-negativi e ne causa la distruzione con conseguente morte cellulare. I batteri a loro volta possono resistere all'azione della colistina riducendo la carica negativa della membrana esterna o, nel caso più estremo, eliminando completamente questo involucro. *Pseudomonas aeruginosa* blocca l'attività della colistina attivando una specifica modificazione della membrana esterna, che consiste nell'aggiunta di 4-ammino-L-arabinosio al lipide A della membrana.

**Ipotesi e obiettivi** - Usando un approccio *in silico* guidato dalla struttura dell'enzima ArnT, abbiamo identificato un potenziale inibitore di questo enzima che catalizza l'ultimo step di aminoarabinosilazione del lipide A. Questo composto, denominato BBN149, ripristina la resistenza alla colistina negli isolati di *P. aeruginosa*, anche di origine clinica FC. Inoltre, abbiamo identificato lo scaffold ent-beyerane come piattaforma per l'ulteriore sviluppo di inibitori di ArnT. Sulla base di questi risultati ci proponiamo di sviluppare: i) inibitori ottimizzati della resistenza alla colistina; ii) formulazioni basate su nano-complessi per lo sviluppo di formulazioni inalabili dei composti.

**Metodi essenziali** - Una libreria di diterpeni ent-beyerane verrà disegnata usando protocolli computazionali basati su un modello di ArnT di *P. aeruginosa*. Le molecole risultanti saranno sintetizzate mediante procedure sostenibili, a basso costo, ecologiche e scalabili. L'attività dei composti sarà determinata mediante studi *in vitro* di legame ad ArnT di *P. aeruginosa* e metodi microbiologici convenzionali. Verranno usate opportune metodiche di microfluidica o "film lipidico" per produrre sistemi di rilascio basati su liposomi.

**Risultati preliminari** - Nel primo progetto abbiamo disegnato e sintetizzato derivati del composto BBN149 che hanno permesso l'identificazione della piattaforma diterpene ent-beyerane per lo sviluppo di potenziali inibitori di ArnT. In particolare, sono stati prodotti 15 derivati di BBN149, uno dei quali ha mostrato una migliore attività rispetto a BBN149. Inoltre, l'enzima ArnT da *P. aeruginosa* è stato prodotto e purificato per permettere studi il legame *in vitro* dei composti.

**Conclusioni** - Abbiamo identificato una piattaforma chimica per lo sviluppo di inibitori di ArnT da usare come adiuvanti della

colistina. Ci aspettiamo in questo modo di contrastare la resistenza alla colistina in *P. aeruginosa* e di preservare l'attività di questo farmaco che è usato nei casi di infezione da ceppi resistenti a tutti gli altri antibiotici disponibili. La veicolazione di questi composti ai polmoni FC sarà migliorata mediante lo sviluppo di opportuni nano-complessi.



Framing the QR code to reach the presentation of the FFC#12/2021 project

## 33. Fighting *Pseudomonas aeruginosa* persisters in cystic fibrosis pulmonary infections: improved detection and therapeutic strategies

Mangiaterra G<sup>1</sup>, Cedraro N<sup>1</sup>, Vaiasica S<sup>1</sup>, Vignaroli C<sup>1</sup>, Citterio B<sup>2</sup>, Cirilli N<sup>3</sup>, Fabrizzi B<sup>3</sup>, Biavasco F<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Life and Environmental Sciences, Polytechnic University of Marche, Ancona, <sup>2</sup>Department of Biomolecular Sciences sect. Biotechnology, University of Urbino "Carlo Bo", Urbino, <sup>3</sup>Cystic Fibrosis Centre, Department of Gastroenterology and Transplantation, United Hospitals, Ancona, Italy (FFC#16/2019, concluded)



Fiorentina Ascenzioni, second from the right, with her lab researchers

**Background and Rationale** - *Pseudomonas aeruginosa* persistent forms, including the Viable But Non-Culturable (VBNC) variants, contribute to the lung infection recurrence in cystic fibrosis (CF) patients. Antibiotics have been demonstrated to be involved in the development of such specialized forms. In the first year of the project, we demonstrated a role for drugs targeting protein and cell wall synthesis in the induction of *P. aeruginosa* VBNC cells by *in vitro* assays.

**Hypothesis and Objectives** - In the second year we aimed to validate a *P. aeruginosa* species-specific flow cytometry protocol to test clinical samples and to investigate the occurrence of *P. aeruginosa* VBNC cells in CF sputum before and after the antibiotic treatment, by detecting them by both flow cytometry and qPCR.

**Essential methods** - A flow cytometry protocol, based on the detection of a specific 16S rRNA sequence by a fluorescent probe, was used. Its ability to quantify *P. aeruginosa* in the CF sputum matrix was assessed using a pooled *P. aeruginosa*-negative sample, spiked with serial bacterial dilutions (up to 10<sup>6</sup> cells/ml). Its reliability in analysing clinical samples was evaluated by comparing the *P. aeruginosa* amount detected in CF samples, anonymously collected from the Clinical Microbiology laboratory of Ospedali Riuniti of Ancona (Ancona, Marche) with that obtained with the previously validated ecfX-qPCR.

**Results** - The *P. aeruginosa* probe was tested using lab cultures of different CF pathogens (*Staphylococcus aureus*, *Stenotrophomonas maltophilia* and *Burkholderia cepacia*), confirming its speci-

ficity. *P. aeruginosa* quantification in spiked samples showed that flow cytometry counts were always  $\geq 105$  cells/ml, regardless the inoculum amount. Counts lower than 105 cells/ml were found only for uninoculated samples. The seeking of *P. aeruginosa* in CF sputum samples by both flow cytometry and qPCR showed similar results for most (74%) of them, thus confirming the ability of the developed flow cytometry protocol to detect *P. aeruginosa* in this kind of specimen. Moreover, five samples resulted negative for *P. aeruginosa* by the routine cultural method showed its presence (counts, 103 -105 cells/ml) by both flow cytometry and qPCR.

**Conclusions** - The developed FC protocol was able to specifically detect *P. aeruginosa* in CF sputum samples, confirming most results provided by qPCR and highlighting the occurrence of VBNC *P. aeruginosa* forms in culture-negative samples. The obtained results indicate the developed qPCR and flow cytometry protocols as two promising approaches to implement the culture-based routine microbiological diagnosis of CF lung infection, with the flow cytometry results supporting the actual ability of the qPCR protocol to detect only viable cells. Further analyses on CF samples collected before/after the antibiotic treatment of pulmonary exacerbations will provide further insight on the role of specific antibiotics on VBNC *P. aeruginosa* cell induction in the CF lung.

## Lotta contro le forme persistenti di *Pseudomonas aeruginosa* nell'infezione polmonare FC: miglioramento delle tecniche diagnostiche e delle strategie terapeutiche

**Razionale dello studio** - Le forme batteriche persistenti di *Pseudomonas aeruginosa*, incluse quelle vitali ma non coltivabili (VBNC), contribuiscono alla ricorrenza delle infezioni polmonari in fibrosi cistica (FC) ed è stato suggerito che il trattamento antibiotico stesso potrebbe avere un ruolo nella loro formazione. Nel primo anno del progetto è stata evidenziata l'induzione *in vitro* di forme VBNC di *P. aeruginosa* da parte di inibitori della sintesi proteica (aminoglicosidi) e della parete batterica ( $\beta$ -lattamici).

**Ipotesi e obiettivi** - In questo secondo anno, lo scopo del progetto era quello di dimostrare la presenza delle forme VBNC di *P. aeruginosa* in campioni clinici FC in occasione di episodi di riacutizzazione dell'infezione e in relazione alla specifica terapia antibiotica, usando un protocollo specie-specifico di citofluorimetria, da affiancare a quello già messo a punto di qPCR.

**Metodi essenziali** - È stato usato un protocollo di citofluorimetria basato sull'uso di una sonda complementare a una sequenza specie-specifica dell'rRNA16S. La capacità della citofluorimetria di quantificare *P. aeruginosa* in campioni di espettorato è stata valutata usando campioni *P. aeruginosa*-negativi, inoculati con concentrazioni batteriche progressivamente decrescenti; la sua applicabilità ai campioni clinici usando 23 campioni di espettorato FC raccolti random e anonimamente presso il laboratorio di Microbiologia Clinica degli Ospedali Riuniti di Ancona e comparando i risultati ottenuti con quelli del saggio di qPCR specie-specifica precedentemente validato.

**Risultati** - La specificità del protocollo di citofluorimetria è stata dimostrata usando colture di laboratorio di patogeni FC differenti da *P. aeruginosa* (*Staphylococcus aureus*, *Stenotrophomonas maltophilia* e *Burkholderia cepacia*) e ottenendo sempre risultati negativi. La capacità del metodo di quantificare correttamente *P. aeruginosa* non ha dato i risultati attesi; infatti, le conte sono sempre risultate  $\geq 105$  cellule/ml, indipendentemente dalla carica batterica del campione. Va notato però che: in assenza di *P. aeruginosa* le conte erano sempre  $< 105$  cellule/ml; il protocollo di citofluorimetria usato per rilevare la presenza/assenza di *P. aeruginosa* in campioni di espettorato FC ha dato risultati corrispondenti a quelli ottenuti con la qPCR nel 74 % dei casi e i 5 campioni negativi per *P. aeruginosa* all'esame culturale di routine, sono risultati positivi usando sia la citofluorimetria, con conte  $\geq 105$  cellule/ml, sia la qPCR.

**Conclusioni** - I dati ottenuti indicano che i protocolli di cito-

fluorimetria e di qPCR messi a punto costituiscono due validi approcci per integrare la diagnostica microbiologica di routine dell'infezione polmonare da *P. aeruginosa*. Inoltre, i risultati di citofluorimetria supportano quelli di qPCR, escludendo il rilevamento di falsi positivi. La valutazione del ruolo della terapia antibiotica sulla induzione delle forme VBNC tramite l'analisi di campioni prelevati prima e dopo il trattamento farmacologico di esacerbazioni polmonari è in corso.

## 34. Targeting small RNA-mediated regulation of virulence and antibiotic resistance to develop non-traditional therapeutic options against *Pseudomonas aeruginosa*

Bertoni G

Dipartimento di Bioscienze, Università di Milano (FFC#10/2020, pilot project concluded - FFC#14/2021, new)



Giovanni Bertoni and collaborators

**Background and hypothesis** - The increase in resistance to antimicrobial drugs, together with the delay of conventional research to discover new antibiotics, is inevitably and drastically limiting our ability to fight infectious processes. The discovery of anti-virulence molecules has been emerging as an approach that can produce drugs with high specificity and narrow spectra, attractive features for targeted therapies against bacterial pathogens that infect the lungs of cystic fibrosis patients.

**Rationale and objectives of the project** - In this perspective, bacterial small RNAs (sRNAs) represent a largely unexploited category of potential targets for anti-virulence design. Recently, sRNAs have been shown to play key roles not only in modulating bacterial virulence but also in resistance to antibiotics. We showed that the sRNA *ErsA* of *Pseudomonas aeruginosa* is involved in the regulation of several functions linked to pathogenesis and antibiotic resistance. Remarkably, we found that a *P. aeruginosa* mutant strain in which *ErsA* was knocked out fails to form a mature biofilm and is significantly less virulent than the wild-type following the infection of both bronchial epithelial cells and a murine model. Moreover, the deletion of *ErsA* induces sensitization to ceftazidime, cefepime, and meropenem in a multidrug-resistant clinical strain.

The main aim of this project is to develop and test anti-*ErsA* Peptide Nucleic Acids (PNAs) able to bind to *ErsA*, block its regulatory function, and induce the phenotypes that we observed in the *P. aeruginosa* *ErsA* knock-out mutants.

**Essential methods** - PNAs annealing to *ErsA* will be tested for the activities of: i) interfering with the *ErsA*-mediated regulation of target genes in *P. aeruginosa* reporter strains, ii) biofilm inhibition/eradication, and iii) resensitization to antibiotics of clinical multidrug resistance *P. aeruginosa* isolates from cystic fibrosis patients.

**Preliminary results** - Promisingly, we could observe inhibition of the *ErsA* regulatory activity by some members of our panel of anti-*ErsA* PNAs following administration to a *P. aeruginosa* strain reporting the expression of the first target of *ErsA* that we selected for the test. Further such assays will follow with the other four *ErsA* targets that we planned to evaluate, along with biofilm formation and anti-biotic sensitivity assays.

**Conclusions and expected results** - Overall, we are interested to establish whether anti-*ErsA* PNAs can be used for further application as anti-virulence drugs in monotherapy or combination with antibiotics currently used in the clinic for the treatment of *P. aeruginosa* airways infections.

## La regolazione della virulenza e della antibiotico resistenza mediata da piccoli RNA come bersaglio per lo sviluppo di terapie non tradizionali contro *Pseudomonas aeruginosa*

**Razionale dello studio** - L'aumento della resistenza ai farmaci antimicrobici, insieme al ritardo della ricerca convenzionale per scoprire nuovi antibiotici, sta inevitabilmente e drasticamente limitando la nostra capacità di combattere i processi infettivi. La scoperta di molecole antivirulenza sta emergendo come un approccio in grado di produrre farmaci con elevata specificità e spettri ristretti, caratteristiche interessanti per terapie mirate contro i batteri patogeni che infettano i polmoni dei pazienti con fibrosi cistica.

**Ipotesi e obiettivi** - In questa prospettiva, i piccoli RNA batterici (sRNA) rappresentano una categoria in gran parte non sfruttata di potenziali bersagli per la progettazione farmaci antivirulenza. Recentemente, è stato dimostrato che gli sRNA svolgono ruoli chiave non solo nella modulazione della virulenza batterica, ma anche nella resistenza agli antibiotici. Abbiamo mostrato che l'sRNA *ErsA* di *Pseudomonas aeruginosa* è coinvolto nella regolazione di diverse funzioni legate alla patogenesi e alla resistenza agli antibiotici. Sorprendentemente, abbiamo scoperto che un ceppo mutante di *P. aeruginosa* in cui *ErsA* è stato eliminato non riesce a formare un biofilm maturo ed è significativamente meno virulento a seguito dell'infezione sia di cellule epiteliali bronchiali che di un modello murino. Inoltre, la delezione di *ErsA* induce sensibilizzazione a ceftazidime, cefepime e meropenem in un ceppo clinico multiresistente. L'obiettivo principale di questo progetto è sviluppare e testare acidi nucleici peptidici (PNA) anti-*ErsA* in grado di legarsi a *ErsA*, bloccarne la funzione regolatoria e indurre i fenotipi che abbiamo osservato nei mutanti deleti per *ErsA* di *P. aeruginosa*.

**Metodi essenziali** - PNA che si legano a *ErsA* saranno saggiati per la capacità di i) interferire con la regolazione di alcuni geni target di *ErsA* in ceppi reporter di *P. aeruginosa*, ii) inibire/eradicare il biofilm, iii) indurre sensibilizzazione agli antibiotici in ceppi multiresistenti di *P. aeruginosa* isolati da pazienti affetti da fibrosi cistica.

**Risultati preliminari** - In modo promettente, abbiamo potuto osservare l'inibizione dell'attività regolatoria di *ErsA* da parte di alcuni membri del nostro gruppo di PNA anti-*ErsA* in seguito alla somministrazione a un ceppo di *P. aeruginosa* reporter dell'espressione del primo bersaglio di *ErsA* che abbiamo selezionato per il test. Ulteriori test di questo tipo seguiranno con gli altri quattro bersagli *ErsA* che abbiamo pianificato di valutare, insieme alla formazione di biofilm e ai test di sensibilità agli antibiotici.

**Conclusioni e risultati attesi** - Nel complesso, siamo interessati a stabilire se questi PNA anti-*ErsA* possono essere usati per future applicazioni come farmaci antivirulenza da soli o in combinazione con antibiotici di uso clinico nel trattamento delle infezioni del polmone da *P. aeruginosa*.

Framing the QR code to reach the presentation of the FFC#14/2021 project



## 35. Disrupting *Pseudomonas aeruginosa* Quorum Sensing signalling in Cystic Fibrosis patients as a new frontier for antibacterial therapy

Brun P<sup>1</sup>, Marzaro G<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Università degli Studi di Padova, Dip. di Medicina Molecolare,

<sup>2</sup>Università degli Studi di Padova, Dip. di Scienze Farmaceutiche e Farmacologiche (FFC#11/2020, pilot project concluded)



Paola Brun

**Background and hypothesis** - Respiratory tract infections are the leading cause of morbidity and mortality in persons with cystic fibrosis (CF). The dominant pathogen in CF, *P. aeruginosa*, uses quorum sensing (QS) to regulate virulence factors. Thus, the interference with QS of *P. aeruginosa* may represent a species-specific and antibiotic-independent treatment in CF infections.

**Rationale and objectives** - Several compounds have been reported to disrupt the bacterial QS. In this proposal, we aim at repurposing already approved drugs as inhibitors of QS in *P. aeruginosa* to hamper its virulence and limit pathogenicity in CF patients.

**Essential methods** - Bioluminescence of the QS reporter strain *Vibrio harveyi* BB120 was used to screen 100 derivatives synthesized in our laboratories to identify molecules that interfere with *Las* and *Rhl*, the QS pathways of *P. aeruginosa*. We incubated *P. aeruginosa* with the selected compounds (50  $\mu$ M) for 24 hours to confirm the results. Bacterial cultures were interrogated by qRT-PCR and functional assays of virulence factors. Cytotoxic effects on eukaryotic and prokaryotic cells were evaluated by MTT assay and growth curve, respectively. The molecular structures of compounds helped to build a pharmacophore model to select already approved drugs as QS inhibitors of *P. aeruginosa*. In parallel, 24 *P. aeruginosa* clinical isolates were collected from the sputum of CF patients. The clinical isolates were identified by MALDI-TOF and characterized for their virulence factors and genes involved in the QS.

**Results** - Among the 100 tested compounds, we identified inhibitors and agonists of the QS systems of *P. aeruginosa*. By qRT-PCR we recognized 3 compounds significantly reducing mRNA levels of *lasI*, *rhlI*, *rhlR*, and *lasR*, genes involved in QS regulation. The same compounds reduced *P. aeruginosa* biofilm formation and virulence factors (i.e. pyocyanin, protease). By molecular docking assays, we identified 40-FDA approved drugs as inhibitors of QS in *P. aeruginosa*. As proof of principle, 17 of them have already been tested and two strongly reduce QS-related gene expression. Most of the CF clinical isolates are potentially responsive to QS inhibitors.

**Conclusions** - During the last year, we collected results indicating that already approved, nontoxic drugs can successfully interfere with QS signaling in *P. aeruginosa*. Moreover, the identified drugs improve our knowledge of the structural-function relationship to identify more powerful QS inhibitors.

## Interferire nel segnale di Quorum sensing di *Pseudomonas aeruginosa*: una nuova frontiera per la terapia antibatterica in pazienti con fibrosi cistica

**Razionale dello studio** - Anche a causa del problema dell'antibiotico resistenza, le infezioni polmonari sono a tutt'oggi la causa principale della compromissione della qualità di vita nei pazienti con fibrosi cistica (FC). Il principale patogeno, *P. aeruginosa*, usa un sistema di comunicazione batterica, il *Quorum sensing* (QS), per provocare malattia. Di conseguenza, interferire con il QS rappresenta un nuovo tipo di trattamento delle infezioni in FC, indipendente dagli antibiotici.

**Ipotesi e obiettivi** - Poiché diverse sostanze possono interferire nel QS batterico, in questo progetto abbiamo riunito un team multidisciplinare per riproporre farmaci già in uso come inibitori del QS di *P. aeruginosa* al fine di limitare la sua capacità di provocare infezione in FC.

**Metodi** - In questo studio abbiamo usato saggi di bioluminescenza al fine di fare una prima selezione di inibitori di QS tra più di 100 diverse sostanze. Le più promettenti sono state poi studiate

mediante saggi molecolari su ceppi di *P. aeruginosa*. Gli effetti tossici cellulari sono stati esclusi mediante analisi in coltura. I risultati ci hanno permesso di tracciare un profilo di relazione struttura-attività degli inibitori di QS al fine di interrogare librerie di farmaci già approvati. Parallelamente, 24 isolati clinici di *P. aeruginosa* sono stati raccolti da pazienti con FC e caratterizzati.

**Risultati** - Tra le 100 diverse sostanze, abbiamo identificato tre composti in grado di ridurre significativamente il QS di *P. aeruginosa* e la sua virulenza, quindi la capacità di dare infezione. Queste sostanze sono state usate come modello per selezionare 40 farmaci approvati da FDA e usati in clinica con diverse indicazioni. Di questi 40 farmaci, 17 sono stati testati e 2 di loro riducono in maniera significativa la virulenza anche negli isolati clinici.

**Conclusioni** - Durante questo anno di progetto, abbiamo raccolto dati che indicano la presenza tra i farmaci già usati in clinica di promettenti inibitori del QS di *P. aeruginosa*. Questi farmaci sono già stati valutati per la loro tossicità e sicurezza e rappresentano quindi dei farmaci "pronti all'uso" per le infezioni in FC. Tali risultati inoltre sono il punto di partenza per l'analisi di nuove molecole utili al trattamento di infezioni causate da altri patogeni in FC.

## INFLAMMATION

### 36. Nanotechnology-based Resolvin D1 as pro-resolving therapy in cystic fibrosis: preclinical studies for the delivery of innovative formulations to the clinic

Recchiuti A<sup>1</sup>, Aloisi A<sup>2</sup>, Capurro V<sup>3</sup>, Pantano S<sup>4</sup>, Rabindra Tirouvanziam R<sup>5</sup>, Marcus Mall M<sup>6</sup>, Bragonzi A<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Università "G. d'Annunzio" di Chieti – Pescara, Chieti, <sup>2</sup>Istituto per la Microelettronica e Microsistemi – Consiglio Nazionale delle Ricerche, Lecce, <sup>3</sup>IRCCS "G. Gaslini", Genova, <sup>4</sup>CRFC, Ospedale San Liberatore, Atri, <sup>5</sup>Emory University, Atlanta, GA, <sup>6</sup>Charité – Universitätsmedizin, Berlin, <sup>7</sup>CFaCORE, Istituto San Raffaele, Milano (FFC#19/2020, pilot project concluded, FFC#20/2021 extension)



Antonio Recchiuti and Alessandra Aloisi

**Background and hypothesis** - The ambitious goal of this project is developing and testing bioactivity of innovative nanotechnology-based formulations of resolvin (Rv) D1 to foster the delivery of pro-resolution therapies in cystic fibrosis (CF), since failure to resolve inflammation contributes to the morbidity of CF even in the era of modulators. Evidence from our preclinical studies signifies RvD1 holds therapeutic potential for people with CF, including those that do not benefit from modulators. However, to advance clinical development of RvD1, a proper drug formulation must be constructed and tested in relevant preclinical studies. The overarching hypothesis tested here is that spermidine-Silica Nanoporous Particles (sSNP) can be assembled and serve as a formulation to deliver RvD1 with improved potency in vivo and in vitro.

**Rationale and objectives of the project** - Evidence indicates that sSNP can represent a viable strategy for the therapeutic delivery of pro-resolving active molecules that can reduce lung pathology in CF.

To this end, 3 specific aims are proposed

1. Construction of sSNP-RvD1
2. Testing sSNP-RvD1 in vivo
3. Testing sSNP-RvD1 in human cell systems

**Essential methods** - sSNP were constructed with a biomimetic one-pot synthesis in the presence of spermidine as template and functional agent favouring RvD1 loading. Stability, toxicity, pharmacokinetics, and bioactivities were determined in vitro in primary cells from volunteers with CF and in vivo in infected CFTR<sup>-/-</sup> and  $\beta$ ENaC Tg mice bearing spontaneous mucus plugging and lung disease.

**Results** - sSNP were tolerated well as indicated by lack of toxicity on CF bronchial epithelial cell integrity and in vivo on mouse weight and liver, kidney, and gut histology. RvD1-sSNP were stable in aqueous buffer, retained drug-release property as indicated by pharmacokinetics following mouse gavage, and enhanced PMN and macrophage phagocytosis and resolution of lung infection. In  $\beta$ ENaC mice, RvD1 significantly reduced excessive leukocyte infiltration in the lungs.

**Conclusions** - Completion of these aims will generate innovative nanoformulation for the pharmacological delivery of RvD1 that are stable, easy to handle, and suitable for different administration routes. Optimized sSNP-RvD1 can be further evaluated for pharmacokinetics and activity prior to the request of human studies. This project is relevant to the FFC Ricerca mission (Priority #4) because it aims at promoting the clinical development of innovative therapies that can reduce lung pathology, alleviate morbidity, and improve lives of people with CF.

### Terapie pro-risolutive per la fibrosi cistica mediante resolvina D1 e nanotecnologie: studi pre-clinici per la consegna alla clinica di formulazioni innovative

**Problema e ragioni dello studio** - La mancata risoluzione dell'infiammazione polmonare, scatenata dalle infezioni oppure dall'accumulo di muco nelle vie aeree ha gravi effetti sulla vita delle persone con fibrosi cistica (FC). Il nostro corpo normalmente produce molecole chimiche in grado di velocizzare la risoluzione dell'infiammazione: nelle persone con FC alcune di esse sono difettose. Il nostro gruppo ha precedentemente dimostrato che una di queste molecole, chiamata resolvina D1 (RvD1), possiede un potenziale terapeutico per i pazienti con FC, compresi quelli che non beneficiano della terapia con modulatori. Al fine di far progredire lo sviluppo clinico di RvD1 per la FC, tuttavia, occorre sviluppare opportune formulazioni che devono essere testate, con appropriati studi pre-clinici, prima di passare agli studi clinici con volontari e pazienti.

**Ipotesi e obiettivi** - Per venire incontro a tale esigenza, in questo progetto di ricerca fabbricheremo formulazioni innovative di RvD1 e le testeremo in esperimenti preclinici. Ciò rappresenterà un passo avanti verso la consegna di RvD1 alla clinica. La nostra ipotesi è che RvD1 possa essere caricata all'interno di piccole particelle a base di silicio e della sostanza naturale spermidina (chiamate nanoparticelle o sSNP), che ne migliorano la stabilità e l'efficacia nel ridurre l'infiammazione, l'accumulo di muco, il danno polmonare e l'infezione nella FC.

**Metodi essenziali** - Per testare questa ipotesi e raggiungere questo obiettivo ambizioso, nel corso di questo progetto, produrremo e caratterizzeremo nanofarmaci chiamati sSNP-RvD1. Valuteremo la tossicità, le proprietà farmacologiche e l'efficacia nel ridurre l'infiammazione, l'accumulo di muco e il grado di infezione.

**Risultati** - Gli esperimenti in corso dimostrano che i nanofarmaci sSNP-RvD1 fin qui ottenuti sono stabili, non tossici e mantengono l'attività biologica di RvD1 nell'attivare la risoluzione dell'infiammazione e dell'infezione batterica.

**Conclusioni** - I risultati di questi esperimenti aiuteranno a definire la potenza e l'efficacia di sSNP-RvD1, le quali rappresenteranno strategie di formulazione innovative e a basso impatto ambientale per la somministrazione di RvD1, aumentandone l'efficacia. Queste sSNP-RvD1 sono adattabili a diverse vie di somministrazione e possono essere migliorate e valutate in studi futuri, come richiesto prima di iniziare indagini cliniche.

Questo progetto è estremamente rilevante perché ha lo scopo di promuovere lo sviluppo clinico di terapie innovative per ridurre la patologia polmonare e migliorare la vita delle persone con FC.



Framing the QR code to reach the presentation of the FFC#20/2021 project

## 37. Oral and pulmonary delivery platforms for anakinra repurposing in cystic fibrosis

Puccetti M, Pariano M, Stincardini C, Wojtylo P, Giovagnoli S  
Università degli Studi di Perugia, Dip. di Scienze Farmaceutiche (FFC#17/2020, ongoing)



Stefano Giovagnoli

**Background, problem, hypothesis** - Although lung disease in cystic fibrosis (CF) is primarily an infectious disorder, the associated inflammation is pathogenic and ineffective at clearing pathogens in CF and this condition could be successfully rescued by anakinra (Kineret) through inhibition of the NLRP3/IL-1 inflammatory pathway.

**Rationale and objectives of the project** - A strong rationale supports anakinra repurposing in CF as proven by an ongoing phase IIa study to evaluate safety and efficacy of Kineret in patients with CF (EudraCT Number: 2016-004786-80). To solve the current anakinra

daily subcutaneous injection unfavorable features for application to CF patients, this project aimed at developing highly translational and compliant oral and pulmonary delivery platforms for anakinra repurposing in CF by 1) formulating delivery platforms by spray-drying to obtain enteric microparticles and inhalable dry powders and 2) assessing the therapeutic efficacy in murine CF models and in human preclinical *in vitro* systems.

**Essential methods** - In the first year, we developed an inhalable form of anakinra. The study encompassed formulation optimization and characterization using the model protein lysozyme to reduce method development costs. The optimized formulation was then employed to fabricate an inhalable anakinra dry powder that was characterized and tested *in vitro* in THP-1 cells to check for protein activity preservation upon spray-drying and subsequently evaluated *in vivo* in F508del-CFTR C57BL/6 mice infected with *A. fumigatus* to define the therapeutic efficacy compared to the commercial form Kineret and a native anakinra standard administered intraperitoneally. Mice were monitored for fungal growth, lung histopathology on paraffin-embedded sections stained with periodic acid-Schiff, neutrophil recruitment in the bronchoalveolar lavage and inflammatory cytokine gene expression by RT-PCR.

**Results** - Being the results obtained patent pending, no data of this first year can be presented at this stage. Very promising results were obtained in terms of formulation quality, preservation of protein activity upon processing as well as *in vivo* performance in CF pathology models. Furthermore, data suggest that pulmonary administration of anakinra may result in superior efficacy compared to the current systemic treatment.

**Conclusions** - Fulfilling project expected results, the obtained inhalable anakinra dry powder shows promising features in terms of protein activity preservation and superior efficacy compared to systemic delivery. Further efforts are directed to the assessment of anakinra pharmacokinetics and possible adverse effects upon inhalation and the development of an oral formulation as useful alternative in cases where the pulmonary route may be precluded.

## Piattaforme di veicolazione orale e polmonare per il repurposing di anakinra nella fibrosi cistica

**Problema e ragioni dello studio.** L'infiammazione esacerbata contribuisce a infezioni respiratorie e patologia in soggetti con fibrosi cistica (FC). Perciò, terapie antinfiammatorie potrebbero portare a sostanziale miglioramento della patologia e della qualità di vita dei pazienti FC. Anakinra (Kineret) è un farmaco potenzialmente utile già in uso clinico, che mostra però caratteristiche sfavorevoli per un impiego nella FC. Questo studio è rivolto a sviluppare nuovi sistemi di veicolazione per anakinra che ne permettano un impiego sicuro e semplice attraverso le vie polmonare e orale.

**Ipotesi e obiettivi** - Confermando le sopracitate premesse, uno studio clinico è stato recentemente intrapreso per valutare la sicurezza ed efficacia di Kineret su pazienti con FC. Perciò, al fine di risolvere i limiti dell'attuale trattamento, il progetto mira a sviluppare sistemi di veicolazione orale e polmonare per anakinra nella FC. Tale obiettivo sarà perseguito sviluppando formulazioni orali e polmonari di anakinra e valutandone l'efficienza *in vitro* e *in vivo*.

**Metodi essenziali** - Durante il primo anno, formulazioni inalatorie sono state ottimizzate usando lisozima come proteina modello per ridurre i costi di sviluppo del processo. La formulazione ottimizzata è stata quindi impiegata per produrre una polvere secca di anakinra inalabile. Tale polvere è stata caratterizzata e testata *in vitro* in cellule THP-1 per verificare la conservazione dell'attività dopo *spray-drying* e ne è stata successivamente valutata l'efficacia *in vivo* in topi F508del-CFTR C57BL/6 infettati con *A. fumigatus* rispetto alla somministrazione intraperitoneale di Kineret e uno standard di anakinra. Sono stati monitorati crescita fungina, istopatologia polmonare, reclutamento di neutrofili e espressione genica di citochine infiammatorie.

**Risultati** - Nel primo anno del progetto è stata sviluppata una forma inalabile di anakinra. Poiché i risultati ottenuti sono in fase di valutazione per una potenziale brevettazione, nessun dato di

questo primo anno può essere presentato in questa fase. Sono stati ottenuti risultati molto promettenti in termini di qualità, conservazione dell'attività e prestazioni *in vivo* in modelli di patologia FC. Inoltre, i dati suggeriscono che la somministrazione polmonare di anakinra può comportare un'efficacia superiore rispetto all'attuale trattamento sistemico.

**Conclusioni** - Soddisfacendo i risultati attesi dal progetto, il prodotto ottenuto mostra caratteristiche promettenti suggerendo una efficacia superiore rispetto alla somministrazione sistemica. È in corso uno studio di farmacocinetica e tossicità e lo sviluppo di una formulazione orale come alternativa utile nei casi in cui la via polmonare possa essere preclusa.

### 38. Harnessing selective histone deacetylase 6 (HDAC6) inhibition to tackle inflammation and fibrotic remodeling in cystic fibrosis

Barone S<sup>1</sup>, Cassese E<sup>1</sup>, Del Gaudio N<sup>2</sup>, Feliz Morel ÁJ<sup>3</sup>, Rossi A<sup>4</sup>, Bragonzi A<sup>4</sup>, Filocamo G<sup>3</sup>, Altucci L<sup>2</sup>, Brindisi M<sup>1</sup>, Summa V<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Pharmacy, University of Naples Federico II, Napoli, Italy, <sup>2</sup>Department of Precision Medicine, University of Campania "Luigi Vanvitelli", Napoli, Italy, <sup>3</sup>Exiris, s.r.l., Castel Romano, Italy, <sup>4</sup>CFaCORE, San Raffaele Scientific Institute, Milano, Italy (FFC#20/2020, concluded)



Vincenzo Summa and Lucia Altucci

**Background-Hypothesis** – Infections caused by *P. aeruginosa* are particularly difficult to treat in persons with cystic fibrosis (CF) and they have the tendency of persisting and becoming chronic. This process catalyses insurgence of inflammation, uncontrolled tissue rearrangement and fibrosis, with deadly consequences. The efficacy of current anti-inflammatory treatments is restricted to symptomatic control of CF-associated airway inflammation, therefore novel and effective therapeutic options are urgently needed.

**Rationale and objectives** – The objective of the project is to unveil a novel therapeutic option for inflammation in CF. The activity of an enzyme, namely histone deacetylase 6 (HDAC6), has been related to crucial patho-mechanisms associated to inflammation and fibrosis. HDAC6 is therefore an exciting new target to be explored to this aim. Inhibiting its function with small molecules displaying high potency and selectivity could represent an innovative strategy to tackle inflammation and prevent fibrotic damage.

**Methods** - In this project we performed: 1) Comparison of known selective HDAC6 inhibitors (HDAC6i) through experimental evaluation of potency, selectivity and pharmacokinetic parameters; 2) *In vivo* efficacy evaluation for a selected HDAC6i in an acute and chronic model of *P. aeruginosa* infection; 3) Design, synthesis and biological assessment of novel selective HDAC6i; 4) Optimization of the key pharmacodynamic and pharmacokinetic parameters of the developed compounds. Collaboration with the CFaCore (Cystic Fibrosis Animal Core Facility) has been of key importance to validate the *in vivo* efficacy of HDAC6i.

**Results** - In this project we provided the first *in vivo* POC of the efficacy of HDAC6 selective inhibition on both the inflammatory CF-associated phenotype and on bacterial load, using a known inhibitor. In parallel, we have developed a series of novel inhibitors

endowed with high HDAC6 selectivity, assessed on both isolated protein and cell-based assays, and favorable pharmacokinetic profile.

**Conclusions** - Our results pave the way to the identification of a complementary anti-inflammatory treatment for CF patients to be potentially used in conjunction with correctors of the genetic defect. The POC generated within this project with a known HDAC6i, together with the development of a proprietary, patentable series of novel HDAC6i, are key achievements supporting further research efforts in this field.

### L'inibizione selettiva dell'istone deacetilasi 6 (HDAC6) quale nuova strategia per combattere l'infiammazione e il rimodellamento fibrotico nella fibrosi cistica.

**Problema e ragioni dello studio** – Le infezioni causate da *P. aeruginosa* sono estremamente difficili da trattare nei pazienti affetti da fibrosi cistica (FC) e hanno la tendenza a persistere e divenire croniche. Ciò catalizza l'insorgenza di processi infiammatori e dà luogo al riarrangiamento incontrollato dei tessuti e alla fibrosi, con conseguenze mortali. L'efficacia delle attuali strategie antinfiammatorie nella FC è limitata al controllo sintomatico dell'infiammazione delle vie aeree, pertanto sono assolutamente necessarie nuove ed efficaci opzioni terapeutiche.

**Ipotesi e obiettivi** – L'obiettivo del progetto è quello di offrire una nuova opzione terapeutica per l'infiammazione associata alla FC. Recentemente l'attività di una proteina, l'istone deacetilasi 6 (HDAC6), è stata correlata all'insorgenza dell'infiammazione e del processo fibrotico associati alla FC. HDAC6 rappresenta, pertanto, un nuovo entusiasmante bersaglio biologico da esplorare a questo scopo. In particolare, bloccare la funzione di questa proteina attraverso piccole molecole dotate di elevata potenza e selettività, potrebbe rappresentare una strategia innovativa per il trattamento della FC.

**Metodi** – In questo progetto abbiamo: 1) Selezionato un inibitore noto selettivo per HDAC6; 2) Valutato l'efficacia *in vivo* di tale composto in un modello acuto e cronico di infezione da *P. aeruginosa*; 3) Sviluppato e ottimizzato nuovi inibitori selettivi di HDAC6 proprietari e brevettabili. La collaborazione con il CFaCore (Cystic Fibrosis Animal Core Facility) è stata di fondamentale importanza per validare *in vivo* la nostra ipotesi.

**Risultati** – In questo progetto abbiamo fornito per la prima volta la prova dell'efficacia *in vivo* dell'inibizione selettiva di HDAC6 sia sul fenotipo infiammatorio associato alla FC che sulla carica batterica. In parallelo, abbiamo sviluppato una serie di nuovi inibitori dotati di elevata selettività per HDAC6 e di un profilo farmacocinetico favorevole.

**Conclusioni** – I nostri risultati aprono la strada all'identificazione di un trattamento antinfiammatorio complementare per i pazienti FC da usare potenzialmente in combinazione con i correctori del difetto genetico. La conferma dell'ipotesi di partenza utilizzando un inibitore noto di HDAC6, e il parallelo sviluppo di una serie brevettabile e proprietaria di nuovi inibitori, sono risultati chiave che stimolano ulteriori sforzi di ricerca in questo campo.

### 39. Counteracting inflammation triggered by *P. aeruginosa*-activated lung-infiltrating Th1/17 cells: a novel approach for precision medicine in CF

Conte G<sup>1</sup>, Rossi E<sup>1</sup>, Baldelli V<sup>1</sup>, Costa A<sup>1</sup>, Pavese G<sup>1</sup>, Palleschi A<sup>3</sup>, Nosotti M<sup>3</sup>, Johansen HK<sup>2</sup>, Landini P<sup>1</sup>, Paroni M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Bioscienze – Università degli studi di Milano, <sup>2</sup>Department of Clinical Microbiology – Rigshospitalet of Denmark, <sup>3</sup>Dipartimento di Chirurgia toracica e trapianti di polmone – Fondazione IRCCS Cà Granda, Ospedale Maggiore Policlinico di Milano (FFC#18/2020, ongoing)

**Background and Rationale** - Chronic lung infections caused by *P. aeruginosa*, are the main cause of mortality in CF patients. During infection, *P. aeruginosa* undergoes a characteristic evolutionary



From the left Moira Paroni and Helle Krogh Johansen

adaptation that, despite leading to the loss of several virulence factors, triggers an overly activation of the immune system. Indeed, the main cause of lung function decline in CF is the persistent activation of various immune cells that, while failing to eradicate *P. aeruginosa* infections, promotes tissue damage and pulmonary failure. So far, anti-inflammatory therapies have mostly proven ineffective, possibly due to their inability to impair the activation of pathogenic components of the immune system. In addition, the poor knowledge of the molecular interactions between *P. aeruginosa* and the CF immune system hinders the discovery and development of targeted and more efficient anti-inflammatory drugs. In this respect, the recent identification of a new subset of T lymphocytes (Th1/17), that produce pro-inflammatory cytokines (IFN- $\gamma$  and IL-17), highly enriched in CF patients chronically infected by *P. aeruginosa* and that strongly correlate with disease severity and lung injury, has represented a turning point.

**Hypothesis and Objectives** - In CF, the excessive activation of Th1/17 cells by CF adapted *P. aeruginosa* strains can induce epithelial damage by IFN- $\gamma$  production, and also further increases neutrophils recruitment by IL-17 secretion, ultimately leading to lung failure. However, the interaction mechanisms between *P. aeruginosa* and dendritic cells (DCs), promoting polarizing cytokines secretion, leading to pathogenic Th1/17 activation, are still largely uncharacterized. The main objective of the project is to characterize the precise role of Th1/17 in CF pathogenesis and the *P. aeruginosa* genetic determinants responsible for pathogenic Th1/17 activation.

**Essential methods** - We first determined the frequencies of different Th1/17 cell subsets in lung of CF and non-CF patients by cytofluorimetric analysis. Next, in order to understand which *P. aeruginosa* genetic determinants induce the activation of these Th1/17 subsets by interaction with DCs, we have analyzed the interplay between clinical *P. aeruginosa* strains isolated at different time point during chronic lung infection (early vs late) with DCs isolated from healthy donors (HD) and persons with CF. Persistent *P. aeruginosa* strains were characterized through whole genome sequencing to identify potential genetic adaptations involved in the persistence phenotype.

**Preliminary results** - Our data show that only one of the several Th1/17 subsets is selectively enriched in the CF lungs chronically infected with *P. aeruginosa*. Notably, these Th1/17 cells are more strongly activated by *P. aeruginosa* isolates from CF lungs than by laboratory strain PAO1, further confirming their potential pathogenic role in CF. Moreover, we observed that clinical *P. aeruginosa* strains persist significantly more than PAO1 within DCs inducing higher levels of pro-inflammatory cytokines linked to Th1/17 differentiation. In particular, some clinical adapted *P. aeruginosa* strains showed a higher ability to persist within DCs from CF patients compared to their early clonal isolates, also promoting a further increase of IL-1 $\beta$  production. From preliminary genetic analysis these strains share a small set of genetic mutations affecting genes involved in LPS and type IV pili biosynthesis, type VI secretion system, and malonate and threonine metabolism when compared to their early isolates.

**Conclusions** - By elucidating both Th1/17-specific immunological pathways and *P. aeruginosa* determinants for their activation, we expect to identify new important targets for novel drugs able to counteract the pathogenic inflammation in CF.

## Combattere l'infiammazione cronica polmonare scatenata dalle cellule Th1/17 patogene attivate da *P. aeruginosa*: un nuovo approccio di medicina di precisione in fibrosi cistica

**Ragioni dello studio.** Le infezioni croniche polmonari causate da *P. aeruginosa*, sono la principale causa di mortalità nei pazienti FC. Durante la permanenza nel polmone FC, *P. aeruginosa* va incontro a un processo di adattamento che, pur determinando la perdita dei suoi principali fattori di virulenza, induce un'esagerata risposta infiammatoria. Infatti, è proprio la massiva infiltrazione di diverse componenti del sistema immunitario in risposta alle infezioni croniche di *P. aeruginosa* a causare il danno tissutale che porta alla perdita delle funzionalità polmonari. Attualmente la maggior parte delle terapie antinfiammatorie in FC risultano inefficienti e la mancanza di una conoscenza approfondita dei meccanismi molecolari dell'interazione tra *P. aeruginosa* e sistema immunitario FC è un grosso limite nello sviluppo di farmaci antinfiammatori più mirati ed efficaci. La recente identificazione di una nuova classe di linfociti T (Th1/17) altamente arricchita nei polmoni dei pazienti FC con infezioni croniche di *P. aeruginosa* e direttamente coinvolta nel processo di danno polmonare, ha rappresentato un importante punto di svolta.

**Ipotesi e obiettivi** - In FC, l'eccessiva attivazione delle cellule Th1/17 in risposta a ceppi clinici di *P. aeruginosa* adattati all'ambiente polmonare FC può indurre direttamente un danno epiteliale mediante la produzione di IFN- $\gamma$  e aumentare ulteriormente il reclutamento di neutrofili tramite la secrezione di elevate quantità di IL-17, portando infine al declino polmonare. Ciononostante, non è ancora stato dimostrato come i ceppi clinici di *P. aeruginosa* interagiscono con le cellule dendritiche promuovendo la secrezione di citochine polarizzanti correlate all'attivazione dei linfociti Th1/17 patogenici. Il principale obiettivo del progetto è quindi quello di definire i fattori di virulenza di *P. aeruginosa* responsabili della proliferazione dei linfociti Th1/17 e il ruolo di questi ultimi nella patogenesi della FC.

**Metodi essenziali** - Usando un'analisi fenotipica, abbiamo quantificato l'infiltrazione dei diversi subsets di Th1/17 nel polmone dei pazienti FC e non-FC. Inoltre, per caratterizzare quali ceppi di *P. aeruginosa* fossero in grado di indurre l'attivazione delle cellule Th1/17, abbiamo analizzato l'interazione di diversi ceppi clinici di *P. aeruginosa* isolati dai polmoni di pazienti FC a diversi stadi dell'infezione cronica (precoci vs tardivi) con le cellule dendritiche, sia in termini di persistenza sia di risposta infiammatoria. I ceppi di *P. aeruginosa* in grado di persistere all'interno delle cellule dendritiche e di indurre la secrezione di specifiche citochine polarizzanti sono stati caratterizzati mediante un sequenziamento genomico per identificare potenziali determinanti antigenici coinvolti nell'attivazione dei linfociti Th1/17.

**Risultati preliminari** - I nostri risultati preliminari mostrano che specifiche sottopopolazioni di linfociti Th1/17 sono selettivamente arricchite nei polmoni dei pazienti FC con infezione croniche da *P. aeruginosa*. Inoltre, queste sottopopolazioni di Th1/17 proliferano significativamente in risposta a ceppi clinici di *P. aeruginosa* isolati dopo anni di persistenza nei polmoni FC, confermando ulteriormente il loro potenziale ruolo patogenico. Inoltre, i nostri dati dimostrano che i ceppi clinici di *P. aeruginosa* persistono maggiormente all'interno delle cellule dendritiche rispetto al ceppo di laboratorio PAO1, inducendo significativi livelli di citochine polarizzanti correlate all'attivazione dei linfociti Th1/17. In particolare, alcuni ceppi clinici tardivi mostravano una maggior persistenza all'interno delle cellule dendritiche rispetto ai loro clonali precoci, promuovendo un ulteriore aumento nella produzione di citochine pro-infiammatorie polarizzanti. Infine, dall'analisi genetica preliminare degli isolati clinici di *P. aeruginosa* si è osservato solamente un ristretto numero di mutazioni nei ceppi tardivi rispetto ai loro clonali precoci.

**Conclusioni** - Grazie alla caratterizzazione delle pathway immunologiche coinvolte nell'attivazione dei linfociti Th1/17 patogenici in FC e ai determinanti antigenici di *P. aeruginosa* implicati in questi processi, saremo in grado di individuare nuovi potenziali bersagli terapeutici per bloccare l'infiammazione patogenica agendo sugli stimoli che la innescano.

#### 40. Multiomics exploration of the CF primary bronchial epithelium lipidome and its role on CFTR rescue

Armirotti A<sup>1</sup>, Sondo E<sup>2</sup>, Aureli M<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Istituto Italiano di Tecnologia, Genova, <sup>2</sup>UOC Genetica medica, Istituto Gianni Gaslini, Genova, <sup>3</sup>Dipartimento di Biotecnologie Mediche e Medicina Traslationale, Università di Milano (FFC#1/2021, new)



Andrea Armirotti, in charge of the project, and the research partner Elvira Sondo

**Background and hypothesis** - From recent literature, included our own work, it appears evident that lipids, and their metabolism, play a very relevant role in CF and in CFTR rescue. We recently demonstrated how Kaftrio and other drugs leave very clear and distinctive "signatures" in the lipid content of the CFBE41o- model of CF.

**Rational and objectives** - We hypothesize that similar alterations also occur in primary cells. We aim at proving this, by investigating the changes in lipids and proteins specifically associated to Kaftrio and to the individual response of CF subjects to this drug. The aim of our work is to uncover new mechanisms and pathways involved in the positive CFTR rescue, that might be useful to design better and more powerful drugs.

**Essential methods** - Cell cultures from the Primary Cultures service at Gaslini Institute will be treated with Kaftrio and control. At IIT, we will then measure the expression profiles of a few thousands proteins and around 120-200 individual lipids. By using bioinformatics tools, we will uncover networks of lipids and proteins that are specifically associated with CFTR rescue and we will investigate how each subjects' bronchial epithelium responds to the drug. We will also specifically investigate the role of a family of lipids (sphingolipids) in CF and in CFTR rescue.

**Preliminary results** - We already have a set of preliminary data, obtained on primary cells from a F508del individual, that clearly indicate how the exposure to Kaftrio alters the lipid profile of these cells in a clearly detectable manner. Around a half of the total number of samples related to this project (24 subjects, each analyzed in quintuplicate) have already been collected.

**Expected results** - Ours will be the most detailed multiomics investigation of the CF bronchial epithelium undertaken so far. The aim of our project, beside collecting data for the whole CF community, is to uncover new mechanisms for CFTR rescue, with the aim to design improved CF drugs, suitable for many CF individuals, also carrying mutations different from F508del. Our project is thus expected to generate new medicinal chemistry efforts with positive and mid-term outcomes for the patients.

#### Esplorazione multiomica del lipidoma dell'epitelio bronchiale primario della FC e del suo ruolo nel recupero di CFTR

**Razionale dello studio** - Dalla letteratura recente, inclusa la nostra, appare evidente che i lipidi e il loro metabolismo hanno

un ruolo rilevante nella fibrosi cistica (FC) e nel recupero di CFTR. Abbiamo recentemente dimostrato come Kaftrio e altri farmaci per la FC lascino "firme" molto chiare e distinguibili nel contenuto lipidico di un modello *in vitro* di FC.

**Ipotesi e obiettivi** - Ipotizziamo che alterazioni simili avvengono anche nelle cellule delle persone con FC. Vogliamo verificarlo, indagando i cambiamenti nei lipidi e nelle proteine associati specificamente a Kaftrio e alla risposta individuale dei soggetti FC a questo farmaco. Lo scopo del nostro lavoro è scoprire nuovi meccanismi coinvolti nel recupero di CFTR, che saranno utili per progettare farmaci migliori e più potenti.

**Metodi essenziali** - Studieremo l'epitelio bronchiale di pazienti F508del e di pazienti con mutazioni a funzione minima. Le cellule ottenute dal servizio Colture Primarie FFC Ricerca saranno trattate con Kaftrio e il controllo per indagare i cambiamenti nel loro contenuto proteico e lipidico. Tramite strumenti bioinformatici, scopriremo quali lipidi e proteine sono specificamente associate al recupero di CFTR e studieremo come l'epitelio bronchiale di ogni soggetto risponde al farmaco. Indagheremo inoltre in modo specifico il ruolo degli sfingolipidi nella FC e nel recupero di CFTR.

**Risultati preliminari** - Abbiamo già una serie di dati preliminari, ottenuti su cellule di un individuo F508del, che indicano come l'esposizione a Kaftrio altera il profilo lipidico di queste cellule in modo rilevabile. È attualmente in corso la raccolta di tutti i campioni necessari per questo studio.

**Conclusioni** - Il nostro sarà lo studio multiomico più dettagliato dell'epitelio bronchiale CF finora intrapreso. L'idea del nostro progetto, oltre a produrre dati da condividere con la comunità FC mondiale, è quella di scoprire nuovi meccanismi alla base del recupero di CFTR, con l'obiettivo di progettare nuovi farmaci, adatti al più ampio numero di pazienti, portatori anche di altre mutazioni. Il nostro progetto porterà quindi a nuove iniziative di sviluppo farmaci, con risultati positivi e a medio termine per i pazienti.



Framing the QR code to reach the presentation of the project

#### 41. Toward the development of tailored therapies for insensitive CF gating mutations

Chilin A<sup>1</sup>, Lukacs G<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Farmaceutiche e Farmacologiche, Università di Padova, <sup>2</sup>Dipartimento di Fisiologia, McGill University, Montreal - Canada (FFC#3/2021, new)



Adriana Chilin (bottom right), in charge of the project, Giovanni Marzaro (up right), research partner, and the lab collaborators



**Background and hypothesis** - Many of the rare gating CF-causing mutations are marginally responsive to the action of the currently approved modulator drugs, but their CFTR functionality could be enhanced by the use of combinations of gating potentiators.

**Rationale and objectives** - We recently identified a novel pyrazole-pyrimidinone derivative able to significantly improve the G551D-CFTR function, with a different mechanism of action and binding site relative to that of the VX-770 (i.e. ivacaftor). The goal of this project is to identify novel modulators that, either alone or in combination, can treat gating-deficient CFTR variants, particularly focusing on mutations characterized by low responsiveness to current modulators.

**Material and methods** - We will design and synthesize novel derivatives to search for improved functional rescue efficacy of common and resistant CFTR mutations. The synthesized compound will be screened to verify their potentiator activity on a subset of common and rare functional-deficient CFTR defects and pharmacologically-corrected class II/III mutations. The most active compounds will be tested, alone or in combination with other known and preclinical CFTR modulators, to confirm the induced channel opening. The obtained results will allow to determine their structure-activity relationship and combinatorial profiling in association with other potentiators.

**Preliminary results** - To date, we have projected a second generation of pyrazole-pyrimidinone derivatives to improve the G551D-CFTR function and we are going to synthesize and screen their potentiator activity on common and resistant mutation.

**Conclusions** - We expected to pave the way for the development of novel polypharmacology that will allow more effective therapy for a CF patient population carrying (ultra-)rare CFTR gating mutations that are poorly responsive to currently approved drugs.

## Verso lo sviluppo di terapie personalizzate per le mutazioni di apertura del canale CFTR resistenti

**Razionale dello studio** - Molte delle mutazioni rare che riguardano l'apertura del canale CFTR, responsabili per l'insorgenza della fibrosi cistica, rispondono parzialmente all'azione dei modulatori attualmente approvati e disponibili in commercio. Tuttavia, l'uso di combinazioni di potenziatori può migliorare ulteriormente la funzionalità del canale.

**Ipotesi e obiettivi** - Abbiamo individuato un derivato pirazolo-pirimidico che, presentando un meccanismo d'azione e un sito di legame diversi da quelli del VX-770 (i.e. ivacaftor), è in grado di incrementare in modo significativo la funzione G551D-CFTR. L'obiettivo di questo progetto è identificare nuovi modulatori che, da soli o in combinazione, siano utili nel trattare le varianti di CFTR caratterizzate da ridotta apertura del canale; l'attenzione sarà focalizzata in particolare sulle mutazioni poco sensibili ai modulatori attualmente disponibili.

**Metodi essenziali** - Saranno progettati e sintetizzati nuovi derivati che permettano di ottenere migliori capacità di ripristino funzionale nei confronti delle mutazioni CFTR, sia comuni che resistenti. I composti sintetizzati saranno testati per verificare l'attività di potenziamento su una serie di difetti di funzionalità CFTR – sia comuni che rari – e su mutazioni di classe II/III farmacologicamente corrette. I composti più attivi saranno saggiati, da soli o in combinazione con altri modulatori di CFTR noti e preclinici, per confermare la capacità indotta di aprire il canale. I risultati ottenuti permetteranno di determinare le relazioni struttura-attività e il profilo di associazione con altri potenziatori.

**Risultati preliminari** - È stata progettata una seconda generazione di derivati pirazolopirimidici per migliorare la funzione di G551D-CFTR. Una volta sintetizzati, sarà valutata l'attività di potenziamento di questi composti su mutazioni comuni e resistenti.

**Conclusioni** - Il progetto potrà aprire la strada allo sviluppo di una nuova polifarmacologia in grado di offrire terapie più efficaci per i pazienti portatori di mutazioni (ultra-) rare e caratterizzate da ridotta apertura del canale, che poco rispondono ai farmaci attualmente disponibili.



Framing the QR code to reach the presentation of the project.

## 42. In vitro evaluation of novel sequence-specific RNA editing tools to rescue nonsense mutant CFTR transcript

Di Leonardo A, Melfi R, Cancemi P, Barra V, Chiavetta R  
Department of Biological, Chemical and Pharmaceutical Sciences and Technologies, University of Palermo, Italy (FFC#5/2021, new)



Aldo Di Leonardo (second from the right) and collaborators

**Background and hypothesis** - Approximately 8% of CF patients worldwide and 12% in Europe have been reported to carry a stop mutation in the CFTR gene that in turn leads to mRNA with Premature Termination Codons (PTCs) responsible for a truncated CFTR protein. We believe that novel therapeutic tools to treat stop mutations are worth to be investigated to increase the range of therapeutic opportunities for these CF patients.

**Rationale and objectives of the project** - Site-directed RNA editing uses molecular tools to recruit RNA editing enzymes (ADARs) to target sites of interest and might be exploited to correct PTCs in the CFTR mRNA. RNA editing is based on sequence-specific deamination, catalyzed by ADARs, of adenosine (A) to inosine (I) that is read as guanosine (G) by ribosomes and is a valuable tool for RNA based therapies. Among the tools to edit mutant CFTR mRNA we will use the REPAIR v2 (RNA Editing for Programmable A to I Replacement v2), and ASOs (AntiSense Oligonucleotides) RNA oligos spanning the region of the mutant mRNA with a loop recognized by ADARs. Finally, we aim to recover the functional full length CFTR protein in CFF-16HBEge W1282X-CFTR and CFF-16HBEge G542X-CFTR human cells by sequence-specific mRNA editing.

**Essential methods** - We aim to recode the UGA PTC in a sense codon in the CFTR mutant mRNA by two alternative site-directed RNA editing platforms:

1) the RNA Editing for Programmable A to I Replacement v2 (REPAIRv2) system.

2) PTC correction by AntiSense Oligonucleotides (ASOs) specific for the region where the PTC is located.

REPAIRv2 and ASOs platforms will be delivered by lipofectamine or by recombinant adeno-associated viral (AAV) vectors in CFF-

16HBEge W1282X-CFTR and CFF-16HBEge G542X-CFTR cells. The presence of the CFTR edited transcript and protein expression will be evaluated by biomolecular techniques.

**Preliminary results** - Our previous results have paved the way to further explore sequence-specific RNA base editing approaches to edit CFTR mRNA harboring premature termination codons. (FFC#5 2018; IntJMolSci. 2020 Jul 6;21(13):4781).

**Conclusions** - Validation of the REPAIRv2 and ASOs as tools to edit PTCs in the CFTR mRNA to recover the full length CFTR protein.

### Valutazione *in vitro* di nuovi strumenti per la modifica (*editing*) sito-specifica di RNA messaggeri con mutazioni non senso (stop) del gene CFTR

**Razionale dello studio** - Il gene CFTR con mutazioni non senso (stop) codifica un RNA messaggero (mRNA) con codoni stop prematuri (PTC) che è responsabile della traduzione di una proteina tronca. Sebbene alcune molecole usate per superare le mutazioni stop siano promettenti, è necessario investigare nuovi approcci per il recupero funzionale della proteina CFTR.

**Ipotesi e obiettivi** - Il progetto mira ad applicare nuove tecniche per la modifica (*editing*) sito-specifica dell'mRNA, basate sul reclutamento dell'enzima deaminasi (ADAR) su una specifica adenosina dell'mRNA. La modifica sito-specifica dell'mRNA tramite la deaminazione dell'adenosina (A) in inosina (I), ribonucleotide riconosciuto come guanosina dal ribosoma, consentirebbe di correggere codoni stop prematuri nell'mRNA. Per il recupero della proteina CFTR tramite *editing* sito-specifico dell'mRNA verranno utilizzati due approcci: il sistema REPAIRv2 e gli oligonucleotidi antisenso (ASOs) specifici per la regione dell'mRNA dove è presente il codone di stop.

**Metodi essenziali** - Due approcci alternativi di *editing* dell'RNA sito-specifico saranno utilizzati per modificare il codone STOP prematuro UGA in un codone di senso nell'mRNA mutante del gene CFTR mediante:

- 1) Uso della piattaforma REPAIRv2 (RNA Editing for Programmable A to I Replacement v2).
- 2) Uso di oligonucleotidi antisenso (ASO) specifici per la regione in cui si trova il codone di stop prematuro.

La piattaforma REPAIRv2 e gli ASO saranno veicolati in cellule umane *in vitro* (W1282X-CFTR e G542X-CFTR) mediante micelle lipidiche o vettori virali adeno-associati (AAV) ricombinanti. La presenza del trascritto modificato e l'integrità della proteina CFTR saranno valutate con tecniche biomolecolari.

**Risultati preliminari** - I nostri studi precedenti (FFC#5 2018; IntJMolSci. 2020 Jul 6;21(13):4781) hanno suggerito che è possibile effettuare la modifica (*editing*) dell'RNA messaggero del gene CFTR con mutazioni stop e quindi l'importanza di approfondire la ricerca di in questo campo.

**Conclusioni** - Sviluppo di terapie basate sull'*editing* dell'RNA messaggero del gene CFTR con codoni di stop prematuri per il recupero della proteina CFTR integra.



Framing the QR code to reach the presentation of the project

### 43. Enhancing the prediction of clinical responses to CFTR modulators by *in vitro* assays using patient-derived tissues under conditions mimicking native status of CF airways

Laselva O<sup>1</sup>, Lucidi V<sup>2</sup>, Pesole G<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche, Università degli Studi di Foggia, <sup>2</sup>Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma, <sup>3</sup>Dip. di Bioscienze, biotecnologie e biofarmaceutica, Università degli Studi Aldo Moro, Bari (FFC#6/2021, new)



From the left: Onofrio Laselva, responsible of the project, and partners Vincenzina Lucidi and Graziano Pesole

**Background and hypothesis** - Chronic infection and inflammation are the primary causes of declining lung function in Cystic Fibrosis (CF) patients. Orkambi, Symkevi and Kaftrio are approved combination therapy for CF patients carrying at least one F508del allele. However, the clinical effect size is variable patient to patient. It has been previously shown that Orkambi-mediated rescue of CFTR is reduced by clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*. Therefore, the patient-to-patient variation in Kaftrio response, might be attributed, in part, to differences in types of microbial infections across patients. Moreover, it has been demonstrated the presence of IL-17A high levels in sputum from CF patients, suggesting the role of IL-17 cytokines in the pathophysiology of CF hyperinflammatory lung disease and bacterial infection.

**Rationale and objectives** - *In vitro* screening of patient-specific responses to CFTR modulators under infection or inflammation in a relevant preclinical model using primary airway epithelial cells could enhance the prediction of clinical response. In the proposed study we aim to infect primary human nasal epithelial (HNE) cells with clinical strains of *P. aeruginosa* isolated from the sputum of the corresponding CF patient to mimic what happens *in vivo*. We will also test the effect of IL-17 cytokines on CFTR modulators to restore the mutated CFTR function in HNE cells. These studies will allow us to comprehend better the role of infection and inflammation in the clinical response to CFTR modulators.

**Essential methods** - We will analyze the efficacy of CFTR modulators in HNE cells infected with clinical strain of *P. aeruginosa* or after treatment with IL-17 cytokines on: i) functional rescue of mutated CFTR by Ussing Chamber and FLIPR assay; ii) rescue of protein expression by Western blotting. We will investigate the pro-inflammatory cytokines in HNE cells infected with clinical strain of *P. aeruginosa* by Bio-Plex assay and RNA sequencing.

**Preliminary results** - We found that Orkambi-mediated rescue of F508del-CFTR is reduced by clinical strains of *P. aeruginosa* and restored by anti-infectives in HBE cells. Interestingly, we found high expression levels of IL-17 cytokines in F508del-CFTR HBE cells infected with the PAO1 strain. Moreover, treatment with IL-17 cytokines reduced Orkambi-mediated rescue of F508del-CFTR in HBE cells.

**Conclusions** - Understanding the role of infection and inflammatory response, that mimics the native status of CF airways, on mutated CFTR rescue by CFTR modulators should provide the basis for optimizing the prediction of clinical responses to CFTR modulators.

## Ottimizzazione della previsione delle risposte cliniche ai modulatori di CFTR utilizzando le cellule primarie nasali in condizioni che rispecchiano lo stato infiammatorio del paziente FC

**Razionale dello studio** - L'infezione cronica e l'infiammazione sono le cause primarie del declino della funzionalità polmonare in persone con fibrosi cistica (FC). Orkambi, Symkevi e Kaftrio sono terapie attualmente approvate per i pazienti FC portatori, su almeno un allele, della mutazione F508del. Complessivamente, la risposta clinica a queste terapie è significativa ma è variabile tra i pazienti trattati. È stato dimostrato che il ripristino della F508del-CFTR indotto da Orkambi è ridotto nelle cellule bronchiali epiteliali (HBE) infettate con i ceppi clinici di *P. aeruginosa*. Pertanto, la variabilità può essere dovuta, in parte, alle differenze nei tipi di infezioni microbiche dei pazienti. Inoltre, è stata dimostrata la presenza di elevati livelli della citochina IL-17A nell'espettorato di persone con FC, suggerendo un suo ruolo nella fisiopatologia della FC.

**Ipotesi e obiettivi** - L'uso delle cellule primarie nasali (HNE) in condizioni di infezioni o infiammazione, potrebbe migliorare la previsione della risposta clinica ai modulatori della CFTR. Pertanto, studieremo l'efficacia dei correttori nel ripristino della CFTR mutata in HNE di pazienti FC in presenza di ceppi clinici di *P. aeruginosa* a isolati dai corrispettivi pazienti. Inoltre, determineremo la quantità di citochine rilasciate, così come l'espressione genica, nelle HNE dopo l'infezione con i ceppi clinici di *P. aeruginosa*. Infine, studieremo l'effetto delle citochine IL-17 nella CFTR mutata ripristinata dai modulatori di CFTR.

**Metodi essenziali** - Studieremo l'efficacia dei modulatori di CFTR nelle HNE infettate da ceppi clinici di *P. aeruginosa* isolati da pazienti FC stessi oppure trattate con le citochine IL-17 mediante: i) Ussing chamber e FLIPR per i saggi funzionali; ii) espressione proteica mediante Western blotting. Inoltre, studieremo le pathway delle citochine pro-infiammatorie in HNE infettate da ceppi clinici di *P. aeruginosa* mediante Bio-Plex assay e RNA sequencing.

**Risultati preliminari** - Abbiamo dimostrato che l'efficacia di Orkambi nel ripristino della F508del-CFTR è ridotta in cellule HBE infettate con i ceppi clinici di *P. aeruginosa*. Inoltre, i livelli di espressione genica delle citochine IL-17 aumentano nelle HBE infettate con PAO1. Infine, il trattamento delle HBE con le citochine IL-17 riduce l'efficacia di Orkambi nel ripristino della F508del-CFTR.

**Conclusioni** - La comprensione del ruolo dell'infezione e della risposta infiammatoria, che imita lo stato nativo delle vie aeree di pazienti FC, sul ripristino della CFTR mutata da modulatori di CFTR, dovrebbe fornire la base per ottimizzare la previsione delle risposte cliniche ai modulatori di CFTR.



Framing the QR code to reach the presentation of the project

## 44. Monocyte integrin activation as a cystic fibrosis drug evaluation test – validation phase

Laudanna C

Dep. of Medicine, University of Verona (FFC#7/2021, new)

**Background and Rationale** - Lung inflammation is a major cause of decline in respiratory function in persons with cystic fibrosis (CF). The accumulation of neutrophilic granulocytes (PMNs) in the inflamed lung depends on integrin activation. Recently, we found



Carlo Laudanna

that CFTR regulates the activation of integrins in monocytes. Integrin activation is defective in CF monocytes, leading to an unbalanced recruitment of phagocytes into the lung parenchyma, with exacerbated accumulation of PMNs. The discovery identifies CF as a new type of leukocyte adhesion defect disease (LAD-IV), indicating that a LAD background characterizes the pathogenesis of CF.

**Hypothesis** - Restoration of CFTR function by specific drugs restores LFA-1 activation in CF monocytes. Therefore, quantification of LFA-1 activation in monocytes constitutes a marker of CFTR activity and can be exploited to monitor the efficacy of CFTR correcting drugs.

**Objective** - To demonstrate that the measurement of LFA-1 activation in monocytes can be used to monitor the outcome of patient treatments with the corrective drugs Kaftrio and Symkevi.

**Patients, materials and methods** - Peripheral blood from CF patients selected for type II or III mutations before and after therapy. Monoclonal antibodies that detect low-intermediate and high affinity conformational epitopes of LFA-1. Activation of LFA-1 induced with chemotactic factors. Quantification of LFA-1 activation is measured by flow cytometry and adhesion assays.

**Results** - We analyzed 38 CF patients treated with Kaftrio or Symkevi. The results show that in monocytes isolated from 25 out of 30 patients treated with Kaftrio and from 6 out of 8 patients treated with Symkevi, the therapy was able to correct the LFA-1 activation defect, measured as both affinity induction and adhesion. The affinity measure was more reproducible. Furthermore, a preliminary analysis in 15 patients of the change in respiratory capacity (FEV1) shows that its recovery is significantly greater ( $p=0,04$ ) in the group that presented LFA-1 affinity correction ( $6,5 \pm 7$ ,  $n=7$ ) compared to the group that did not show correction ( $2,3 \pm 2$ ,  $n=6$ ). Notably, the reduction in the concentration of chloride in sweat in the two groups, on the other hand, is entirely comparable. A much wider multiparameter statistical analysis is ongoing to confirm and increase the significance of these data.

**Conclusion** - The data show the correspondence between correction of the CFTR defect and correction of LFA-1 activation defect in CF patients and that the correction of the integrin defect appears to be associated with a greater recovery of FEV1 compared to the evaluation of the concentration of chlorine in sweat. The data, therefore, support that the measurement of monocyte LFA-1 activation can be used as a test to monitor the effectiveness of CF treatments.

## Attivazione integrinica monocitaria come test di valutazione di farmaci per la fibrosi cistica - fase di validazione

**Premesse** - L'infiammazione polmonare è una delle principali cause di declino della funzione respiratoria nei pazienti con fibrosi cistica (FC). L'accumulo dei granulociti neutrofilici (PMN) nel polmone infiammato dipende dall'attivazione delle integrine. Abbiamo scoperto che CFTR regola l'attivazione delle integrine nei monociti. L'attivazione integrinica è, di conseguenza, difettiva nei monociti FC; questo provoca un reclutamento squilibrato dei

fagociti nel parenchima polmonare, con accumulo esacerbato di PMN. La scoperta identifica la FC come un nuovo tipo di malattia da difetto di adesione dei leucociti (LAD-IV), indicando che un contesto LAD caratterizza la patogenesi della fibrosi cistica.

**Ipotesi** - La correzione del difetto CFTR mediante farmaci specifici corregge il difetto di attivazione della integrina- $\beta$ 2 LFA-1 nei monociti FC. Pertanto, la quantificazione dello stato di attivazione di LFA-1 nei monociti costituisce un marcatore dell'attività di CFTR e può essere sfruttata per monitorare l'efficacia dei farmaci che correggono la CFTR.

**Obiettivo** - L'obiettivo del nostro studio è dimostrare che la misurazione dell'attivazione di LFA-1 nei monociti può essere usata per monitorare l'esito dei trattamenti dei pazienti con i farmaci correttivi Kaftrio e Symkevi.

**Materiali e metodi** - Sangue periferico da pazienti FC selezionati per mutazioni di tipo II o III, prima e durante la terapia. Attivazione di LFA-1 indotta con fattori chemiotattici. Anticorpi monoclonali che rilevano epitopi conformazionali di affinità di LFA-1. Quantificazione dell'attivazione di LFA-1 misurata mediante citometria a flusso e saggi di adesione statici.

**Risultati** - Abbiamo analizzato 38 pazienti FC trattati con Kaftrio o Symkevi. I risultati mostrano che in monociti isolati da 25 pazienti su 30 trattati con Kaftrio e da 6 pazienti su 8 trattati con Symkevi, la terapia è stata in grado di correggere il difetto di attivazione di LFA-1, misurato sia come induzione di affinità che di adesione. Inoltre, l'analisi preliminare in 15 pazienti della variazione di capacità respiratoria (FEV1) mostra che il suo recupero è significativamente maggiore ( $p=0,04$ ) nel gruppo che ha presentato correzione di affinità di LFA-1 ( $6,5 \pm 7$ ,  $n=7$ ) rispetto al gruppo che non ha presentato correzione ( $2,3 \pm 2$ ,  $n=6$ ). Da notare che la riduzione della concentrazione di cloro nel sudore nei due gruppi è, invece, del tutto sovrapponibile. Un'approfondita analisi statistica multi-parametrica è in corso per confermare e aumentare la significatività di questi dati.

**Conclusioni** - I dati mostrano la corrispondenza fra correzione del difetto di CFTR e correzione del difetto di attivazione di LFA-1 in persone con FC, e che la correzione del difetto integrinico appare associato a un maggiore recupero di FEV1 rispetto alla valutazione della concentrazione di cloro nel sudore. I preliminari dati, quindi, supportano la tesi che la misurazione dell'attivazione di LFA-1 nei monociti possa essere utilizzata come test per monitorare l'efficacia dei trattamenti in FC.



Framing the QR code to reach the presentation of the project.

## 45. Theratyping of cystic fibrosis

Lucarelli M<sup>1</sup>, Eramo A<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento Biotecnologie cellulari ed Ematologia, Università La Sapienza, Roma, <sup>2</sup>Istituto Superiore di Sanità, Dip. di Oncologia e Medicina Molecolare, Roma (FFC#8/2021, new)

**Background and hypothesis** - Mutation-specific precision therapy is currently in clinical use for cystic fibrosis (CF). However, its effectiveness remains unexplored for a large group of rare ("orphan") variants. Theratyping can identify which CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) pathogenic variants respond to therapeutic modulators, allowing a clinical translation of their use.

**Rationale and objectives** - Already used modulatory therapies could be effective also on rare CFTR genotypes still untested.



From the left: Marco Lucarelli and Adriana Eramo and the research group

*Amplificatory therapies may enhance the amount of CFTR targeted by correctors and potentiators. The main objective of this proposal is the theratyping of CF rare genotypes unexplored for modulatory response, using an innovative patient-derived cellular system. Also, an amplificatory experimental strategy and a new combination of modulators, will be tested.*

**Essential methods** - We will use nasal airway epithelial stem cells (AESC), obtained by the "culture reprogramming condition" (CRC). We will derive, from nasal airway epithelium of CF patients, CF-CRC-AESC cultures (also differentiated) and organoids. At least 65 CF patients, with 61 different genotypes, 60 of which rare (till now untested) and 5 F508del/F508del, will be assessed for their response to: Kaftrio (and, in absence of response, to Orkambi); an experimental DNA hypomethylating drug (as an amplificatory strategy); a new combination of modulators (ivacaftor, lumacaftor, elxacaftor).

**Preliminary results** - In previous projects, the proposed cellular system has been completely setup by the applicant group. Till now, 37 long-term cultures with 26 different CFTR genotypes has been obtained, fully characterized and tested with several drugs. Limiting to rare genotypes, the effective therapeutic response to Kaftrio has been highlighted for 6 individual genotypes previously unexplored.

**Conclusions** - The possibility to perform theratyping in each CF patient also with rare or individual genotype is of great translational impact. The results about the responsive genotypes will be published, in order to spread the information within the scientific community. CF patients, with documented effective response at cellular level, will be disclosed to the CF reference Center of Lazio Region for possible treatment, following approval by regulatory authorities. At cellular level, the effect of the new modulator combination and of the innovative amplificatory strategy will be revealed and will represent a starting point for future clinical trials.

## Theratyping della fibrosi cistica

**Razionale dello studio** - La terapia di precisione della fibrosi cistica (FC) da parte dei modulatori di CFTR è oggi una realtà per alcune varianti patogenetiche. Tuttavia, l'efficacia dei modulatori su un gran numero di varianti rare, spesso individuali, è sconosciuta. Il cosiddetto *theratyping* è la sperimentazione, a livello cellulare, di farmaci già in uso clinico per la FC su genotipi non precedentemente valutati e per i quali non erano progettati.

**Ipotesi e obiettivi** - L'obiettivo di questo progetto è la valutazione di terapie modulatorie (già in uso) su genotipi rari di CFTR. I pazienti con i genotipi che mostreranno una risposta cellulare verranno sottoposti all'attenzione del Centro di Riferimento regionale per la FC che, nell'ambito della normativa vigente, ne valuterà il possibile trattamento terapeutico. Esclusivamente a livello cellulare, verrà anche valutata la possibilità di aumentare la quantità di CFTR sulla quale possano agire i modulatori (la cosiddetta "terapia amplificatoria") e una nuova combinazione di modulatori.

**Metodi essenziali** - Dalle vie aeree nasali di persone con

FC verranno prodotte cellule staminali e organoidi (una versione miniaturizzata e semplificata delle vie aeree). Almeno 65 pazienti FC, con 61 diversi genotipi, 60 dei quali rari (mai precedentemente valutati) e 5 F508del/F508del saranno caratterizzati per la loro risposta a: Kaftrio (e, in assenza di risposta, Orkambi); una sostanza sperimentale ipometilante del DNA (come strategia amplificatoria); una nuova combinazione di modulatori (ivacaftor, lumacaftor, elxacaftor).

**Risultati preliminari** - Nei progetti precedenti, il sistema cellulare proposto è stato completamente messo a punto dal nostro gruppo di ricerca. Finora sono state ottenute 37 colture a lungo termine con 26 diversi genotipi di CFTR, completamente caratterizzate e analizzate con diversi farmaci. Limitandosi ai genotipi rari, l'efficace risposta terapeutica a Kaftrio è stata evidenziata per 6 genotipi individuali precedentemente non studiati.

**Conclusioni** - La possibilità di effettuare il *theratyping* per ogni paziente FC, anche con genotipo raro o individuale, è di grande utilità traslazionale. I pazienti che mostreranno una risposta cellulare potranno trarre beneficio dal possibile trattamento. I risultati sui genotipi rispondenti verranno pubblicati, al fine di rendere nota l'informazione alla comunità scientifica. Ciò costituirà un ulteriore passo avanti nel trasferimento dei risultati dal laboratorio alla pratica clinica. A livello cellulare, verrà evidenziato l'effetto della nuova combinazione di modulatori e dell'innovativa strategia di amplificazione, il che rappresenterà un punto di partenza per futuri studi clinici.



Framing the QR code to reach the presentation of the project

## 46. Lead optimization of MKT-077 analogues as HSP70 allosteric inhibitors combined with F508del-CFTR correctors: a multi-drug approach to contrast cystic fibrosis

Parodi A<sup>1</sup>, Pesce E<sup>2</sup>, Salis A<sup>1</sup>, Sabbadini R<sup>3</sup>, Sturla<sup>1</sup>, Bruzzone S<sup>1</sup>, Cichero E<sup>3</sup>, Millo E<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Experimental Medicine, Section of Biochemistry, University of Genoa, Genoa, Italy, <sup>2</sup>U.O.C. Genetica Medica, Istituto Giannina Gaslini, Genoa, Italy, <sup>3</sup>Department of Pharmacy, Section of Medicinal Chemistry, University of Genoa, Genoa, Italy (FFC#9/2021, new)



Enrico Millo, in the middle, and his lab researchers

**Background and hypothesis** - Cystic fibrosis (CF) is a genetic disease caused by mutations in the CFTR gene, which encodes a cAMP-regulated chloride channel (CFTR) whose function resulted to be compromised. Combinations of molecules interacting with

other proteins involved in functionality of the CFTR channel are expected to result in a large rescue of F508del-CFTR. The design of compounds targeting the molecular chaperone Hsp70 has been discussed as a strategy to optimize drug combinations for the treatment of cystic fibrosis. HSP70 inhibitors may represent lead compounds for the development of optimized multi-drugs to contrast CF.

**Rationale and objectives** - Combinations of correctors with other derivatives interacting with molecular chaperones highly related to the CFTR folding and degradation processes, are expected to maximize the therapeutic effect of the correctors. The principal aim of our project is the rational design of novel MKT-077 analogues as HSP70 allosteric inhibitors. The most promising compounds will be tested in functional assays on bronchial CFBE41ocells expressing F508del-CFTR, in presence of CFTR correctors. Our goal is to identify new combinations of drugs with improved drug-like properties.

**Essential methods** - Based on molecular modeling studies and medicinal chemistry strategies, new series of MKT-077 analogues will be designed and ranked *in silico*. The most promising of them will be synthesized and tested on primary human bronchial epithelial cells, in combination with the available CFTR correctors. Then, the mechanism of action of the most effective and novel derivatives will be explored by specific assays.

**Preliminary results** - Recently, we synthesized different chemical analogues of MKT-077 and measured their cellular effects in combination with different correctors. One of these (GR24) displayed an increase in efflux by iodide efflux assays when administered with VX-809 (i.e. lumacaftor) and analogues. Such data allow us to consider GR24 a precursor that can somehow mimic the action of MKT-077 probably targeting the HSP70 protein and then worthy of optimization.

**Conclusions** - Several studies have demonstrated that CFTR is a druggable target to contrast CF. However, combinations of drugs exhibiting different mechanism of action are needed to pave the way for more effective therapies. We expected to identify HSP70 inhibitors to use in combination with correctors. These results will be important for the development of CF therapies.

## Ottimizzazione di analoghi di MKT-077 come inibitori allosterici di HSP70 combinati con correttori F508del-CFTR: un approccio multi-farmaco per contrastare la fibrosi cistica

**Razionale dello studio** - La fibrosi cistica (FC) è una malattia genetica causata da mutazioni che compromettono la funzione di CFTR, una proteina necessaria per il trasporto di cloruro nelle cellule epiteliali. La somministrazione di modulatori con diversi meccanismi d'azione, caratterizzati da un effetto additivo e/o sinergico con quello dei correttori classici, è stata dimostrata efficace nel recupero della funzione di CFTR, come dimostrato da saggi su combinazioni tra correttori e inibitori allosterici di HSP70.

**Ipotesi e obiettivi** - Studi recenti suggeriscono che il recupero efficace della funzionalità del canale CFTR può essere raggiunto con correttori somministrati in presenza di inibitori allosterici di HSP70 (per esempio MKT-077). L'obiettivo del nostro progetto è l'identificazione di nuovi inibitori HSP70 con un ruolo "protettivo" sulla proteina mutata.

**Metodi essenziali** - L'obiettivo di questo approccio è valutare l'attività funzionale di combinazioni di nuovi inibitori di HSP70 e correttori di CFTR. Mediante approcci di modellistica molecolare su HSP70 e di chimica farmaceutica, verranno disegnate nuove serie di analoghi di MKT-077. I più promettenti tra questi *in silico* verranno sintetizzati e testati su cellule epiteliali bronchiali primarie per valutarne l'efficacia in presenza di VX-809 (i.e. lumacaftor) e analoghi. Per i composti più efficaci, verrà confermato il meccanismo di azione via HSP70 mediante saggi specifici.

**Risultati preliminari** - Di recente, abbiamo sintetizzato diversi analoghi chimici di MKT-077 e misurato i loro effetti cellulari in combinazione con diversi correttori. Uno di questi (GR24)

somministrato con VX809 e suoi analoghi, ha mostrato un incremento della funzionalità del canale CFTR mediante saggi di efflusso di ioduro. Tali dati ci permettono di considerare GR24, strutturalmente analogo a MKT-077, come un derivato capace di mimarne l'azione presumibilmente verso HSP70, e un prototipo da ottimizzare.

**Conclusioni** - Diversi studi hanno dimostrato come CFTR rappresenti un potenziale bersaglio farmacologico per contrastare la FC. Tuttavia, l'uso di un approccio combinato e mirato a usare molecole con differenti meccanismi di azione su vari bersagli molecolari è ritenuto efficace nella ricerca di trattamenti terapeutici. Ci aspettiamo di identificare inibitori di HSP70 da associare a correttori tradizionali. Questi risultati saranno importanti per lo sviluppo di terapie per correggere il difetto di base nei pazienti con FC.



Framing the QR code to reach the presentation of the project

## 47. Alternative targets for the treatment of cystic fibrosis basic defect

Guida F<sup>1,2</sup>, Gorrieri G<sup>1,2</sup>, Tamburro S<sup>1,2</sup>, Baldassari S<sup>2</sup>, Federico A<sup>3</sup>, Panatta ML<sup>4</sup>, Marini G<sup>4</sup>, Fiocchi A<sup>3</sup>, Ciciriello F<sup>3</sup>, Musante I<sup>1,2</sup>, Scudieri P<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>DINOGMI, University of Genoa, Genoa, Italy, <sup>2</sup>U.O.C. Genetica Medica, IRCCS Istituto Giannina Gaslini, Genoa, Italy, <sup>3</sup>U.O.C. Fibrosi Cistica, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma, Italy, <sup>4</sup>U.O.C. Otorinolaringoiatria, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma, Italy (FFC#11/2021, new)



Paolo Scudieri (third from left), in charge of the project, and top right the research partner Fabiana Ciciriello

**Background and hypothesis** - Correction of cystic fibrosis (CF) abnormalities may be obtained by restoring the function of CFTR with mutation-specific treatments. A potentially alternative approach is to modulate the activity of other targets, such as TMEM16A, SLC26A9, SLC26A4, or ATP12A, to stimulate CFTR-independent anion secretion or inhibit acidification. This approach could be essential for CF patients expressing undruggable CFTR mutants but could also be useful as an adjuvant therapy supporting the effect of CFTR rescue maneuvers.

**Rationale and objectives of the project** - Despite the increasing interest towards the above-mentioned alternative targets, their precise function and expression in the airways is largely unclear and sometimes controversial. For example, it is not clear if the function of TMEM16A or SLC26A4 needs to be inhibited or activated to improve mucociliary transport in CF. Also, despite its role as modifier gene in CF lung disease, the contribution to epithelial homeostasis of SLC26A9 is largely unknown. Our specific aims are:

1) to study the expression of alternative targets in CF and non-CF airways; 2) to investigate the role of alternative targets in normal and CF airways; 3) to develop functional assays for pharmacological screenings.

**Essential methods** - We plan to investigate the expression and function of alternative targets in ex vivo and in vitro samples of normal and CF airways by an integrated approach involving multiplex immunofluorescence, RNA scope, and gene silencing/upregulation/editing. After selecting the most promising targets and identifying the correct therapeutic strategies (activation or inhibition, as appropriated), we will develop cell-based assays and tools for pharmacological screenings.

**Preliminary results** - We have setup the conditions to investigate alternative targets expression at mRNA (by RNA scope) and protein (by immunofluorescence) level in bronchial samples and airway epithelial cells collected by nasal brushing of CF patients and control individuals.

**Conclusions** - We expect to define novel therapeutic approaches based on the modulation of alternative targets and to develop tools and cell-based assays for future projects aimed at searching novel candidate drugs to compensate CFTR deficiency.

## Studio di bersagli alternativi per compensare la mancata funzione della proteina CFTR

**Razionale dello studio** - La fibrosi cistica (FC) è una grave malattia genetica causata da mutazioni nel gene CFTR. Il trattamento di questa patologia si può basare su farmaci che agiscono direttamente sulla proteina mutata, con lo scopo di ripristinarne la corretta funzione. Un approccio alternativo si potrebbe basare sulla modulazione di bersagli diversi dalla proteina CFTR mutata, con lo scopo di aumentare la secrezione anionica o inibire l'eccessiva acidificazione che si osserva nelle vie aeree dei pazienti FC. Un simile approccio potrebbe essere applicato a tutte le persone con FC, indipendentemente dal tipo di mutazione di CFTR.

**Ipotesi e obiettivi** - Nonostante l'elevato interesse nello sviluppo di nuove strategie terapeutiche rivolte a tutti i pazienti FC, il ruolo preciso di potenziali bersagli alternativi (TMEM16A, ATP12A, SLC26A9 e SLC26A4) è tutt'ora poco conosciuto e talvolta controverso. Per esempio, SLC26A9 è stato identificato come *gene modifier* della patologia polmonare FC, ma la sua espressione nelle vie aeree è risultata molto bassa (quasi assente) in studi recenti. Inoltre, non è chiaro se la funzione di alcuni di questi bersagli alternativi debba essere bloccata o potenziata per compensare l'assenza di CFTR. Pertanto, l'obiettivo principale di questo progetto è lo studio dell'espressione e della funzione nelle vie aeree dei bersagli alternativi, in modo da poter sviluppare degli approcci terapeutici mirati.

**Metodi essenziali** - Il progetto prevede l'uso di cellule epiteliali delle vie aeree ottenute da pazienti FC e controlli sani mediante procedure minimamente invasive (spazzolamento della mucosa delle cavità nasali). Queste cellule saranno studiate nel loro stato originale oppure trattate in laboratorio per riformare dei modelli di epitelio respiratorio, su cui studiare l'espressione e la funzione dei bersagli alternativi.

**Risultati preliminari** - Attraverso vari approcci tecnologici, stiamo analizzando l'espressione dei potenziali bersagli alternativi nelle vie aeree di pazienti FC e di individui sani. Quindi testeremo l'effetto del potenziamento/inibizione di questi bersagli sulla funzionalità dei modelli di epitelio respiratorio generati *in vitro*. Infine, cercheremo di sviluppare modelli cellulari e saggi funzionali per la ricerca di nuovi modulatori farmacologici.

**Conclusioni** - Il nostro progetto potrà definire potenziali approcci terapeutici basati sulla modulazione di bersagli diversi da CFTR, che potranno quindi essere utili per tutti i pazienti FC.

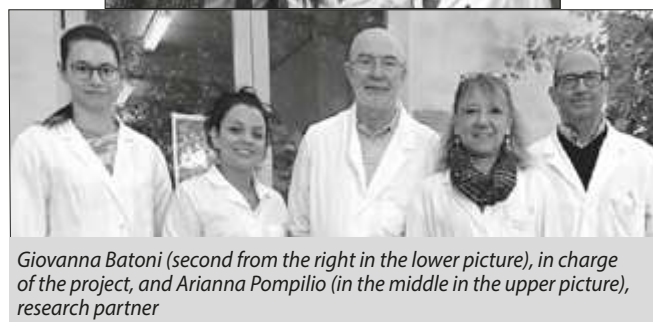


Framing the QR code to reach the presentation of the project

## 48. Probiotics: an emerging strategy to fight bacterial pulmonary infections in CF

Maisetta G<sup>1</sup>, Pompilio A<sup>2</sup>, Di Bonaventura G<sup>2</sup>, Kaya E<sup>1</sup>, Ghelardi E<sup>1</sup>, Celandroni F<sup>1</sup>, Mazzantini D<sup>1</sup>, Quinti S<sup>3</sup>, Botti M<sup>3</sup>, Negri A<sup>3</sup>, Esin S<sup>1</sup>, Batoni G<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Translational Research and New Technologies in Medicine and Surgery, University of Pisa, <sup>2</sup>Department of Medical, Oral and Biotechnological Sciences, G. d'Annunzio University of Chieti-Pescara, <sup>3</sup>Support service for cystic fibrosis, Azienda USL Toscana nord ovest, Livorno (FFC#13/2021, new)



Giovanna Batoni (second from the right in the lower picture), in charge of the project, and Arianna Pompilio (in the middle in the upper picture), research partner

**Background and hypothesis** - Chronic infections and lung inflammation play a significant role in the quality of life of persons with cystic fibrosis (CF). The use of antibiotics and anti-inflammatory drugs unfortunately is not always resolute also due to the widespread resistance of bacteria to conventional antimicrobials. Therefore, the identification of new strategies to complement or replace current antibiotic therapies is a research priority. Among these strategies, the administration of probiotics - i.e. harmless bacteria that if administered in adequate amount can be beneficial to human health - is particularly promising. To date, probiotics are widely used to prevent/treat infections of the intestinal or genitourinary tract. Although recent data indicate that probiotic use could also be exploited successfully against pulmonary infections, further studies are needed to provide more knowledge in this field and to support a rational clinical use of this innovative approach in CF. Our hypothesis, supported by recent data, is that selected probiotics, administered by aerosol, can directly inhibit the growth and virulence of pathogenic bacteria as well as the associated inflammation, with benefit for the lung functions of patients.

**Rationale and objectives** - The beneficial effects of probiotics are very heterogeneous and largely dependent on the species or strain considered. Therefore, the project aims to carry out a large screening of commercial probiotics to identify those most suitable for use in CF.

**Essential methods** - In vitro and in vivo experimental models will be used in which pathogenic bacteria, isolated from the sputum of CF patients, will be cultured in the presence of probiotics and host cells relevant to the lung environment in order to identify antibacterial, anti-virulence and anti-inflammatory effects of the probiotics under consideration.

**Preliminary results** - We are isolating and characterizing strains of pathogenic bacteria from CF patients and selecting commercial probiotics capable of growing and exerting their positive effect in conditions that mimic the lung environment of CF patients.

**Conclusions** - The proposing team of researchers, supported by consultants with clinical experience with CF patients, is expected to identify a particularly active probiotic or mix of probiotics, laying a rational basis for the clinical use of probiotics in CF patients.

## Probiotics: una strategia emergente contro le infezioni polmonari in FC

**Razionale dello studio** - Le infezioni croniche e l'infiammazione polmonare giocano un peso rilevante sulla qualità di vita dei pazienti affetti da (FC). L'uso di antibiotici e di trattamenti antinfiammatori, purtroppo, non è sempre risolutivo anche a causa della diffusa resistenza dei batteri agli antimicrobici convenzionali. Pertanto, l'identificazione di nuove strategie per complementare o sostituire le attuali terapie antibiotiche è una priorità della ricerca. Tra queste strategie, particolarmente promettente è la somministrazione di probiotici, vale a dire di batteri innocui che se somministrati in adeguate quantità possono apportare benefici alla salute dell'uomo. A oggi, i probiotici sono ampiamente utilizzati per prevenire/trattare infezioni del tratto intestinale o genito-urinario. Dati recenti indicano, inoltre, che tale strategia potrebbe essere utilizzata con successo anche contro le infezioni polmonari, ma sono necessari ulteriori studi per fornire maggiori conoscenze in questo campo e per supportare un uso clinico razionale di questo approccio innovativo in FC.

**Ipotesi e obiettivi** - La nostra ipotesi è che probiotici selezionati, somministrati per aerosol, possano inibire direttamente la crescita e la virulenza dei batteri patogeni e l'infiammazione da questi provocata, con beneficio per le funzioni polmonari dei pazienti. Gli effetti benefici dei probiotici sono, tuttavia, molto eterogenei e dipendono in larga misura dalla specie o dal ceppo utilizzato. Il progetto si prefigge pertanto di effettuare un largo screening di probiotici commerciali per identificare quelli più adatti per un impiego in FC.

**Metodi essenziali** - Saranno utilizzati modelli sperimentali *in vitro* e *in vivo* in cui batteri patogeni isolati dall'espettorato di pazienti con FC saranno coltivati in presenza di probiotici e di cellule dell'ospite rilevanti per l'ambiente polmonare al fine di identificare gli effetti antibatterici e antinfiammatori dei probiotici in esame.

**Risultati preliminari** - Stiamo isolando e caratterizzando ceppi di batteri patogeni da pazienti FC e selezionando probiotici commerciali capaci di crescere in condizioni che mimino l'ambiente polmonare FC.

**Conclusioni** - Ci si aspetta che il team di ricercatori proposti, affiancato da consulenti con esperienza clinica con pazienti FC, identifichi un probiotico o un mix di probiotici particolarmente attivo gettando delle basi razionali per un impiego clinico dei probiotici nella persona con FC.



Framing the QR code to reach the presentation of the project

## 49. Tackling phage resistance to increase the robustness of phage therapy for curing *P. aeruginosa* infections in persons with cystic fibrosis (PhaCyf)

Forti F<sup>1</sup>, Bertoli C<sup>1</sup>, Cafora M<sup>2</sup>, Pistocchi A<sup>2</sup>, Briani F<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dip. di Bioscienze, Università degli Studi di Milano, <sup>2</sup>Dip. di Biotecnologie e Medicina traslazionale, Università degli Studi di Milano (FFC#15/2021, new)

**Background and hypothesis** - Persons with cystic fibrosis (CF) are highly susceptible to lung infections caused by different bacteria, among which *Pseudomonas aeruginosa*. Phage therapy, namely exploiting bacteriophages (phages, i.e. bacteria-specific



Federica Briani (second from the right) and her lab researchers

viruses) to kill infecting bacteria, represents a promising strategy for curing bacterial infections refractory to antibiotics in these patients<sup>1</sup>. However, the success of phage therapy may be endangered by the appearance of mutant bacteria resistant to phages<sup>2</sup>.

**Rationale and objectives of the project** - The general goal of this research is to increase the effectiveness of phage therapy in the treatment of recurrent/chronic bacterial infections in patients with CF. This general aim will be pursued by addressing the following specific goals: i) to assess which bacterial functions are responsible for resistance to single phages/phage cocktail and how the mutations causing phage resistance impact fitness, virulence and antibiotic resistance; ii) to isolate phages able to kill phage-resistant *P. aeruginosa* strains.

**Essential methods** - i) Isolation of PAO1 resistant mutants and identification of genes related to phage resistance; ii) Evaluation of the conservation of PAO1 genes/mutations involved in phage resistance in CF isolates; iii) Phenotypic analysis of resistant mutants with ad hoc in vitro and in vivo assays; iv) Identification of phages belonging to our collection or newly isolated from environmental samples able to kill the resistant mutants.

**Preliminary results** - We assembled a collection of phages able to kill *P. aeruginosa* clinical strains isolated from patients with CF and developed a phage cocktail able to treat *P. aeruginosa* infections in animal models among which a CFTR-loss-of-function (LOF) zebrafish.

**Conclusions** - We expect i) to discover *P. aeruginosa* genes involved in resistance to single phages and phage cocktail and understand their contribution to CF-relevant phenotypes; and ii) to identify new phages to be used to treat *P. aeruginosa* infections resistant to the actual phage cocktail formulation. The results of this proposal will be instrumental in the development of new and more robust cocktail formulations and phage-based therapeutic strategies to delay and/or counteract the emergence of phage-resistant bacteria in the treatment of chronic *P. aeruginosa* infections in patients with CF.

## Affrontare la fago-resistenza per aumentare la solidità della terapia fagica nella cura delle infezioni batteriche in pazienti con fibrosi cistica (PhaCyf)

**Razionale dello studio** - I batteriofagi (o fagi) sono virus che infettano specificamente i batteri. La terapia fagica, cioè l'uso di fagi per uccidere i batteri, rappresenta una strategia promettente per curare le infezioni batteriche refrattarie agli antibiotici. Tuttavia, il successo della terapia fagica può essere compromesso dall'evoluzione di batteri mutanti resistenti ai fagi. Questo problema può essere ritardato, ma non completamente prevenuto, dall'uso di miscele di diversi fagi, chiamate cocktail, per curare l'infezione.

**Ipotesi e obiettivi** - Il nostro scopo è di proporre la terapia fagica come trattamento clinico per la cura delle infezioni polmonari da *Pseudomonas aeruginosa* in pazienti affetti da fibrosi cistica (FC). Per rendere questa terapia robusta rispetto

all'insorgenza di fago-resistenza nei batteri, dobbiamo capire quali sono le funzioni batteriche che causano resistenza e le conseguenze della resistenza ai fagi su altri aspetti della fisiologia dei batteri, in particolare quelli rilevanti per l'infezione. Inoltre, dobbiamo ampliare il ventaglio di fagi disponibili per la terapia, includendo nuovi fagi in grado di uccidere i batteri resistenti alle attuali formulazioni di cocktail fagici.

**Metodi essenziali** - Identificheremo i geni di *P. aeruginosa* coinvolti nell'origine della resistenza ai singoli fagi e/o al cocktail e analizzeremo l'impatto delle mutazioni che causano la fago-resistenza sulla crescita, la virulenza e la resistenza agli antibiotici dei batteri. Inoltre, cercheremo di isolare nuovi fagi in grado di uccidere ceppi di *P. aeruginosa* fago-resistenti per ampliare le possibilità di eradicare le infezioni provocate da questo batterio.

**Risultati preliminari** - Recentemente abbiamo assemblato una collezione di fagi in grado di uccidere ceppi clinici di *P. aeruginosa* isolati da persone italiane con FC e sviluppato un cocktail di fagi in grado di trattare le infezioni da *P. aeruginosa* in diversi modelli animali.

**Conclusioni** - I risultati di questo progetto contribuiranno alla progettazione di strategie terapeutiche utili nel trattamento delle infezioni batteriche ricorrenti/croniche nelle persone con FC basate sull'impiego di cocktail di fagi con formulazioni robuste rispetto all'insorgenza della resistenza batterica.



Framing the QR code to reach the presentation of the project

## 50. Linking elxacaftor/tezacaftor/ivacaftor to infections in cystic fibrosis lung disease

Cigana C<sup>1</sup>, Girelli D<sup>2</sup>, Fiscarelli EV<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Unità Infezioni e Fibrosi Cistica, divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie Infettive, Istituto San Raffaele Milano, <sup>2</sup>Lab. Microbiologia FC, Fondazione IRCCS Ca' Granda, Ospedale Maggiore Policlinico, Milano, <sup>3</sup>Lab. Microbiologia FC, Ospedale Bambino Gesù, Roma (FFC#16/2021, new)



From the left: Cristina Cigana, in charge of the project, and the research partners Ersilia Fiscarelli and Daniela Girelli

**Background and hypothesis** - The CFTR modulator Kaftrio has recently been approved and shows great promise. We hypothesize that Kaftrio alters the nature of *P. aeruginosa* infection by directly acting on bacterial off-targets, thus affecting the efficacy of this new CFTR-directed drug.

**Rationale and objectives** - Although Kaftrio has enormous potential to improve outcomes in individuals with CF, marked variability in the response to treatment has been reported in clinical studies (Middleton PG, Mall MA, Drevinek P et al. *N Engl J Med.* 2019; 381(19):1809-1819). We aim to identify specific bacterial genetic and phenotypic modifications associated to Kaftrio



treatment that may affect CFTR expression and/or antibiotic resistance, and in turn modulate the efficacy of this new therapy.

**Essential methods** - Longitudinal clonally-related isolates of *P. aeruginosa*, collected from CF patients prior to the initiation of treatment and after 12 and 18 months of treatment with Kaftrio, will be characterized for relevant phenotypes (mucoidity, twitching and swimming/swarming motility, pyocyanin and protease production) and tested for susceptibility to antibiotics by minimum inhibitory concentration assay. Subsequently, the effect of clonal isolates at specific stages of treatment on CFTR will be evaluated on bronchial epithelial wt- and F508del-CFTR cells by Western blot and immunofluorescence. In addition, changes in the expression of virulence factors and the presence of adaptive mutations after long-term treatment with Kaftrio will be analyzed by RNA-sequencing and whole genome sequencing.

**Preliminary results** - Our preliminary data indicated that: 1) CFTR modulators have synergistic effect with anti-*P. aeruginosa* antibiotics; 2) CFTR expression is reduced by early *P. aeruginosa* isolates but not by their late adapted variants; 3) exposure of *P. aeruginosa* to CFTR modulators impacts bacterial virulence, in turn reducing *P. aeruginosa* anti-CFTR activity.

**Conclusions** - We expect to define the anti-bacterial activities of Kaftrio and to identify specific *P. aeruginosa* isolates that may represent a risk factor for the efficacy of this drug. The results obtained could generate recommendations for the use of Kaftrio, also in combination with antibiotic treatment, to optimally transfer the results to the clinical setting. This may ultimately improve clinical outcomes and the health status of CF patients.

## Valutazione delle proprietà antibatteriche di Kaftrio

**Razionale dello studio** - Nelle persone con FC, i trattamenti convenzionali, in gran parte mirati alla riduzione delle manifestazioni della malattia (ovvero infezione batterica e infiammazione dell'ospite), sono ora supportati da nuovi approcci terapeutici per modulare e correggere CFTR. Sebbene queste nuove terapie, come Kaftrio, abbiano un enorme potenziale di migliorare lo stato di salute delle persone con FC, la risposta clinica è marcatamente variabile, suggerendo che questi farmaci possiedano anche attività indipendenti da quelle che esercitano su CFTR.

**Ipotesi e obiettivi** - La nostra ipotesi è che Kaftrio alteri la natura dell'infezione da *P. aeruginosa* agendo direttamente sui batteri, influenzando di conseguenza l'efficacia di questo nuovo farmaco. Ci prefiggiamo di definire se, come e in che misura Kaftrio influisca sulla suscettibilità agli antibiotici e la virulenza di *P. aeruginosa*.

**Metodi essenziali** - Ceppi clonali di *P. aeruginosa*, isolati dagli escreti di pazienti FC prima dell'inizio del trattamento con Kaftrio e dopo 12 e 18 mesi di trattamento, saranno caratterizzati per fenotipi rilevanti in FC (come la mucoidità, la motilità e la secrezione di proteasi e piocianina) e testati per la suscettibilità agli antibiotici. Successivamente, verrà valutato l'effetto di questi ceppi sull'espressione di CFTR in cellule epiteliali bronchiali con CFTR normale o omozigoti per la mutazione F508del. Inoltre, verranno analizzati i cambiamenti nell'espressione di fattori di virulenza e la presenza di mutazioni adattative dopo il trattamento con Kaftrio.

**Risultati preliminari** - I nostri dati preliminari hanno dimostrato che: 1) i modulatori di CFTR sono in grado di potenziare l'attività di antibiotici usati contro *P. aeruginosa*; 2) l'espressione di CFTR è ridotta dai ceppi precoci di *P. aeruginosa* ma non dalle loro varianti isolate dopo anni di colonizzazione cronica; 3) l'esposizione di *P. aeruginosa* ai modulatori di CFTR influisce sulla virulenza batterica, riducendo a sua volta l'attività anti-CFTR di *P. aeruginosa*.

**Conclusioni** - prevediamo di definire gli effetti anti-batterici di Kaftrio e di identificare specifici ceppi di *P. aeruginosa*

che possono rappresentare un fattore di rischio per l'efficacia di questo farmaco. I risultati ottenuti potrebbero generare raccomandazioni per l'uso di Kaftrio in ambito clinico.



Framing the QR code to reach the presentation of the project

## 51. Mental health in cystic fibrosis patients: the prognostic role of temperament, personality and attachment styles

Serafini G

Dipartimento di neuroscienze, riabilitazione, oftalmologia, genetica e scienze materno-infantili - DINOGMI, Università degli Studi di Genova (FFC#21/2021, new)



Gianluca Serafini, second from the right

**Background and hypothesis** - Depression and anxiety are among the most frequent comorbidities reported in cystic fibrosis (CF), also parental depression and anxiety can affect CF patient's adherence and health outcomes, as reported in the literature. The research hypothesis is that temperament, personality and attachment styles allow to identify a subpopulation of CF patients at risk for a worse prognosis both from a clinical and therapeutic point of view.

**Rationale and objectives** - As highlighted in the literature, personality traits and attachment styles represent two important elements that can positively or negatively affect the course of underlying psychiatric or medical pathologies, as well as temperament is a potential risk factor for mood and anxiety disorders. The aims are to investigate: temperamental characteristics that contribute to the onset of mood and anxiety disorders in persons with CF; the role of personality and attachment styles as predictors of the medication adherence; the impact of illness perception and dissociative symptoms on the clinical course and treatment.

**Essential methods** - It has been planned a prospective observational cohort study: at T0 it will be enrolled 70 patients and parents (of adolescent patients), with the administration of validated psychological tests, part of which will be re-administered for a reassessment through follow-up every 12 months for 2 years, and compared with clinical parameters.

**Preliminary results** - The study is in the start-up phase: we do not have specific data yet, but we collected recent results from a CF sample (n=97) enrolled at our Center that reported 84,7% of mild/moderate anxiety symptoms and 34,7% of mild/moderate depressive symptoms. These data require a more detailed analysis of psychopathological conditions.

**Conclusions** - From this study, a more detailed comprehension of CF patients is expected, also in relation to their tempera-

ment and personality traits, moreover the attachment styles could affect the relationship with clinicians and consequently the medication adherence and the clinical course. According to the predictive medicine model, which aims to identify patients at risk of developing a disease, the assessment of the psychological factors analyzed could allow to move from the current screening strategy of secondary prevention to a better knowledge of the risk factors for the development of psychopathological conditions in CF patients, in order to support a person-centered care.

### **La salute psichica nei pazienti affetti da fibrosi cistica: il ruolo prognostico del temperamento, della personalità e degli stili di attaccamento**

**Razionale dello studio** - La depressione e l'ansia risultano tra le più frequenti condizioni cliniche riportate in fibrosi cistica (FC); la depressione e l'ansia genitoriale possono influenzare l'aderenza terapeutica del paziente con FC e gli esiti clinici, come riportato dalle evidenze scientifiche. Il temperamento è un fattore di rischio potenziale per i disturbi dell'umore e ansiosi. Inoltre, i tratti di personalità e gli stili di attaccamento possono influenzare l'evoluzione di condizioni psichiatriche e mediche sottostanti.

**Ipotesi e obiettivi** - L'ipotesi di ricerca è che il temperamento, la personalità e gli stili di attaccamento possano identificare un gruppo di pazienti con FC a rischio di peggiori prospettive sia da un punto di vista clinico che terapeutico. Gli obiettivi sono di indagare: le caratteristiche temperamentali che contribuiscono allo sviluppo di disturbi dell'umore e di ansia nei pazienti con FC; il ruolo della personalità e degli stili di attaccamento nel determinare l'aderenza alle terapie, nonché la progressione clinica della patologia e il trattamento terapeutico.

**Metodi essenziali** - È stato programmato di considerare un campione di 70 pazienti con FC e genitori di pazienti adolescenti, tramite la somministrazione di test psicologici, parte dei quali verranno risomministrati per una rivalutazione ogni 12 mesi per 2 anni.

**Risultati preliminari** - Lo studio è in fase di avvio: non abbiamo dati specifici, ma abbiamo risultati recenti da un campione di pazienti con FC, considerati presso il nostro Centro, che hanno riportato l'84,7% di sintomi ansiosi lievi/moderati e il 34,7% di sintomi depressivi lievi/moderati. Questi dati richiedono una più dettagliata analisi delle condizioni psicopatologiche.

**Conclusioni** - Da questo studio ci si attende una più dettagliata comprensione dei pazienti FC relativamente ai loro tratti di temperamento e personalità, che potrebbero evidenziare sottostanti condizioni psicopatologiche. In particolare, ci si aspetta che gli stili di attaccamento possano influenzare la relazione con i clinici e di conseguenza l'aderenza alle terapie e il decorso clinico. In accordo con il modello della medicina predittiva, che mira a identificare pazienti a rischio di sviluppare una patologia, la valutazione di questi fattori psicologici potrebbe permettere di migliorare la conoscenza dei fattori di rischio per lo sviluppo di condizioni psicopatologiche nei pazienti con FC, al fine di sostenere una cura centrata sulla persona.



*Framing the QR code to reach the presentation of the project*

# APPENDICES

## Appendix 1

### **Publications and congress communications from the studies funded by the Italian CF Research Foundation 2011-2021**

#### **Pubblicazioni e comunicazioni congressuali dagli studi finanziati da FFC Ricerca dal 2011 al 2021**

##### **1. INNOVATIVE THERAPIES TO CORRECT THE BASIC DEFECT AND CFTR GENETICS**

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

- 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 compubblicazionir 3;11(3):653-64. doi: 10.1021/mp400230s. Epub 2014 Feb 7.

###### Abstracts

- 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, 2013 Dec;45(6):1423-9

- FFC Project#4/2011 **"Role of spatial cAMP/PKA compartmentalization and activity in regulating CFTR function"** Stephan Reshkin (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

- Abbattiscianni 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#6/2011 **"CFTR mRNA analysis as a key step to understand the role of CFTR gene mutations in cystic fibrosis disease expres-**

**sion"** 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 c1584+18672A >G deep-intronic mutation in the CFTR gene" European Human Genetics Conference 2012

- FFC Project#7/2011 **"New strategies for clinical application of non-invasive 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#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- $\kappa$ B/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

#### Abstracts

- Borgatti M. et al. "Biological evaluation of psoralen derivatives as inhibitors of NF- $\kappa$ B/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" Luis JV Galletta (Lab. Genetica Molecolare, Ist. "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.bbame.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 Pycocyanin" *PLoS One*. 2015 Jun 29;10(6):e0131775

#### Abstracts

- Scudieri P. et al. "Constitutive activation of the Ca<sup>2+</sup>-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" 1<sup>st</sup> Italian CF Young Investigator Meeting, January 16<sup>th</sup> - 17<sup>th</sup> 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" 1<sup>st</sup> Italian CF Young Investigator Meeting, January 16<sup>th</sup> - 17<sup>th</sup> 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
- Pesce E, Bellotti M, Sondo E et al. "Aminoarylthiazoles as correctors and potentiators for mutant CFTR" 1th Italian CF Young Investigators Meeting, January 16th-17th 2015, Rome
- Galletta LJV, Pedemonte N, Bertozzi F et al. "Pharmacological modulation of ion transport in CF: CFTR and beyond" ECFC Basic Science Conference 2018, 21 -24 March 2018, Loutraki Korinthias, Greece

- FFC Project#3/2012 "Study of the pathogenetic and therapeutic role of the Epithelial Na<sup>+</sup> 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)

#### Publications

- Pierandrei S, Truglio G, Ceci F et al. "DNA Methylation Patterns Correlate with the Expression of SCNN1A, SCNN1B, and SCNN1G (Epithelial Sodium Channel, ENaC) Genes" *Int J Mol Sci*. 2021 Apr 4;22(7):3754

#### 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" 1<sup>st</sup> Italian CF Young Investigator Meeting, January 16<sup>th</sup> - 17<sup>th</sup> 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 DF508 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: nucleotide-binding 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
- Sondo E, Falchi F, Caci M et al. "Pharmacological Inhibition of the Ubiquitin Ligase RNF5 Rescues F508del-CFTR in Cystic Fibrosis Airway Epithelia" *Cell Chemical Biology* 2018 Apr 26. pii: S2451-9456(18)30124-7
- Tomati V, Pesce E, Caci E et al. "High-throughput screening identifies FAU protein as a regulator of mutant cystic fibrosis transmembrane conductance regulator channel" 2018 Jan 26;293(4):1203-1217

#### Abstracts

- Pedemonte N "Novel CFTR regulators identified by means of a functional genomics approach and their possible mechanisms of action" 2019 ECFS Conference, New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis. 27-30 March 2019, Dubrovnik, Croatia

- FFC Project#6/2012 "CFTR splicing correction mediated by Exon-Specific U1 small nuclear RNAs (ExSpe U1)" Franco Pagani (ICGEB, Trieste)

#### Publications

- Ubby I, Bussani E, Colonna A et al. "TMEM16A alternative splicing coordination in breast cancer" *Molecular Cancer*, 2013; 12: 75

- 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, Bezzetti V, Favia M et al "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

- Abbattiscianni 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
- Castellani S, Favia M, Guerra L et al. "Emerging relationship between CFTR, actin and tight junction in cystic fibrosis airway epithelium" Histology and Histopathology, 2017 May;32(5):445-459.

#### Abstracts

- Abbattiscianni 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" NACF 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
- Abbattiscianni AC, Favia M, Monterisi S, Casavola V "Role of small molecule F508delCFTR correctors on the cAMP/PKA/ezrin compartmentalization in primary CF-BE cells" 1th Italian CF Young Investigators Meeting, January 16th-17th 2015, Rome
- 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
- Marengo B, Speciale A, Senatore L et al. "Matrine in association with FD-2 stimulates F508del-cystic fibrosis transmembrane conductance regulator activity in the presence of corrector VX809" Molecular Medicine Reports 2017 Dec;16(6):8849-8853
- 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.
- Ettore 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 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>" 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 cel-

lulari epiteliali "39th European Cystic Fibrosis Conference, 8 – 11 June 2016, Basel, Switzerland

- Bavestrello M, Averna M, Pedrazzi M et al. "Alterations of CF-PBMC induced by an increase in [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>" 1th Italian CF Young Investigators Meeting, January 16th-17th 2015, Rome
- FFC Project#7/2013 "**Nasal epithelial cells as a novel diagnostic approach for cystic fibrosis and CFTR related-disorders**" Giuseppe Castaldo (CEINGE-Biotecnologie Avanzate scarl, Napoli)

#### 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
- Di Lullo AM, Scorza M, Amato F, Comegna M, Raia V "An "ex vivo model" contributing to the diagnosis and evaluation of new drugs in cystic fibrosis" Acta Otorhinolaryngologica Italica 2017 Jun;37(3):207-213. doi: 10.14639/0392-100X-1328

#### Abstracts

- Scorza M. et al. "Nasal epithelial cells as a novel diagnostic approach for Cystic Fibrosis and CFTR related disorders" 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th - 17th 2015, Rome, Italy
- 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
- Lentini L, Melfi R, Cancemi P et al. "Caffeine boosts Ataluren's readthrough activity" Heliyon 2019 Jun 21;5(6):e01963

#### 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

- Caldre 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
- Caldre 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
- Caldre 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
- Caldre 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
- Caldre S, Baruzzia A, Vercellone S et all. "Studio del canale CFTR su organoidi derivati da mucosa rettale per lo sviluppo di terapie personalizzate e il supporto diagnostico in fibrosi cistica" XII Congresso Italiano Fibrosi Cistica, Salerno, 9-12 Novembre 2016

- 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, 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/
- Moran O. "The biophysics, biochemistry and physiology of CFTR" *Cell and molecular life sciences* 2017 Jan;74(1):1-2. doi: 10.1007/s00018-016-2384-x. Epub 2016 Oct 4
- Moran O. "The gating of the CFTR channel" *Cell and molecular life sciences* 2017; 74: 85-92

## Abstracts

- Moran O, Pollock N, Satriano L, Zegarra-Moran O, Ford R et al "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#5/2014 **"An RNA based approach based on ExSpeU1 for correction of CFTR splicing defects: analysis of efficacy in primary bronchial cells"** Franco Pagani (Centro Internazionale di Ingegneria Genetica e Biotecnologie - ICGEB, Trieste)

## Publications

- Balestra D, Scalet D, Pagani F et al. "An Exon-Specific U1snRNA Induces a Robust Factor IX Activity in Mice Expressing Multiple Human FIX Splicing Mutants" *Molecular Therapy - Nucleic Acids*, 2016 Oct 4;5(10):e370
- Rogalska ME, Tajnik M, Licastro D et al. "Therapeutic activity of modified U1 core spliceosomal particles" *Nature Communications*, 2016; 7: 11168.

- FFC Project#5/2014 **"An RNA based approach based on ExSpeU1 for correction of CFTR splicing defects: analysis of efficacy in primary bronchial cells"** Franco Pagani (Centro Internazionale di Ingegneria Genetica e Biotecnologie - ICGEB, Trieste)

## Publications

- Balestra D, Scalet D, Pagani F et al. "An Exon-Specific U1snRNA Induces a Robust Factor IX Activity in Mice Expressing Multiple Human FIX Splicing Mutants" *Molecular Therapy - Nucleic Acids*, 2016 Oct 4;5(10):e370
- Rogalska ME, Tajnik M, Licastro D et al. "Therapeutic activity of modified U1 core spliceosomal particles" *Nature Communications*, 2016; 7: 11168.

- FFC Project#5/2014 **"An RNA based approach based on ExSpeU1 for correction of CFTR splicing defects: analysis of efficacy in primary bronchial cells"** Franco Pagani (Centro Internazionale di Ingegneria Genetica e Biotecnologie - ICGEB, Trieste)

## Publications

- Balestra D, Scalet D, Pagani F et al. "An Exon-Specific U1snRNA Induces a Robust Factor IX Activity in Mice Expressing Multiple Human

FIX Splicing Mutants" *Molecular Therapy - Nucleic Acids*, 2016 Oct 4;5(10):e370

- Rogalska ME, Tajnik M, Licastro D et al. "Therapeutic activity of modified U1 core spliceosomal particles" *Nature Communications*, 2016; 7: 11168.

- FFC Project#6/2014 **"Development of novel methodologies for the identification of CFTR-targeted drugs: a multidisciplinary approach using Real Time Surface Plasmon Resonance interaction assay supported by bioinformatics strategies on HPC infrastructures"** Marco Rusnati (Dip. di Medicina Molecolare e Traslazionale, Università di Brescia, Unità Analisi Interazione Macromolecolare-Sez. di Oncologia Sperimentale e Immunologia); Paola Fossa (Dip. di Farmacia, Genova), Alessandro Orro (Istituto di Tecnologie Biomediche, CNR, Segrate-Milano)

## Publications

- Rusnati M, Sala D, Orro A et al. "Speeding Up the Identification of Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator-Targeted Drugs: An Approach Based on Bioinformatics Strategies and Surface Plasmon Resonance" *Molecules* 2018 Jan 8;23(1).
- Fossa P "Studi strutturali sulla proteina CFTR: opportunità e prospettive" *La chimica e l'industria*, gen/feb 2019, n.1, anno 2, pp. 48-51

- FFC Project#7/2014 **"A kinase-directed approach to rescue functionality of F508del CFTR"** Andrea Venerando (Dip. Scienze Biomediche, Università di Padova)

## Publications

- Ibrahim SH, Turner MJ, Saint-Criq V et al "CK2 is a key regulator of SLC4A2-mediated Cl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> exchange in human airway epithelia" *European Journal of Physiology* 2017 Sep;469(9):1073-1091.

- FFC Project#8/2014 **"Design and synthesis of improved analogs of trimethylangelicin (TMA) for personalized treatment of cystic fibrosis"** Roberto Gambari (Dip. di Scienze della Vita e Biotecnologie, Sez. di Biochimica e Biologia Molecolare, Università di Ferrara) Adriana Chilin (Dip. di Farmaceutica e Scienze Farmacologiche, Università di Padova)

## Publications

- Gambari R, Breveglieri G, Salvatori F et al. "Therapy for Cystic Fibrosis Caused by Nonsense Mutations" *Intech Open* 2015, 309-326, doi.org/10.5772/61053

## Abstracts

- Lampronti I, Milani R, Manzione G et al "Anti-inflammatory activity of novel 4,6,4'-trimethylangelicin's analogues: Effects on the NF-kappa B activity and IL-8 expression in Cystic Fibrosis IB3-1 cells" *International Journal of Molecular Medicine*, 38, S71-S71, 2016

- FFC Project#9/2014 **"Cystic fibrosis modifier genes related to *Pseudomonas aeruginosa* lung disease"** Alessandra Bragonzi (Unità di Infezioni e Fibrosi cistica, Divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie infettive, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano), Iraj 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

- FFC Project#26/2014 **"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"** Charles Pilette (Université Catholique de Louvain, Brussels) Virginia De Rose (Dip. di Scienze Biologiche e Cliniche, Università di Torino)

## Publications

- Collin AM, Lecocq M, Noel S et al, "Lung immunoglobulin A immunity dysregulation in cystic fibrosis" *EBioMedicine*. 2020 Oct;60:102974.

- 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
- de Bari L, Favia M, Bobba A et al. "Aberrant GSH reductase and NOX activities concur with defective CFTR to pro-oxidative imbalance in cystic fibrosis airways" *J Bioenerg Biomembr* 2018 Mar 9.
- Favia M, de Bari L, Lassandro R et al. "Modulation of glucose-related metabolic pathways controls glucose level in airway surface liquid and fight oxidative stress in cystic fibrosis cells" *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 2019 Apr 27. doi: 10.1007/s10863-019-09797-5.
- FFC Project#2/2015 "**RNF5/RMA1 ubiquitin ligase as a drug target for mutant CFTR rescue**" Andrea Cavalli (Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie - Università di Bologna) Nicoletta Pedemonte (U.O.C. Genetica Medica - Istituti G. Gaslini, Genova)

### Publications

- Li H, Pesce M, Sheppard DN et al "Therapeutic approaches to CFTR dysfunction: From discovery to drug development" *J Cyst Fibros*. 2018 Mar;17(2S):S14-S21
- Tomati V, Caci E, Ferrera L et al. "Thymosin  $\alpha$ -1 does not correct F508del-CFTR in cystic fibrosis airway epithelia" *JCI Insight* 2018 Feb 8;3(3)
- Ashiqul Haque AKM, Dewerth A, Antony JS et al. "Chemically modified hCFTR mRNAs recuperate lung function in a mouse model of cystic fibrosis" *SCI REP* 2018 Nov 13;8(1):16776
- Sondo E, Pesce E, Tomati V et al. "RNF5, DAB2 and Friends: Novel Drug Targets for Cystic Fibrosis" *Current Pharmaceutical Design* 2017;23(1):176-186

### Abstracts

- Pedemonte N "Therapeutic potential of proteostasis modulation in cystic fibrosis" 14th ECFS Basic Science Conference, 29 March – 1 April 2017, Albufeira, Portugal
- Sondo E, Falchi F, Caci E et al. "RNF5 inhibitors as potential drugs for cystic fibrosis basic defect" ECFC Basic Science Conference 2018, 21-24 March 2018, Loutraki Korinthias, Greece
- Brusa I, Falchi F, Sondo E et al. "Hit optimization for the development of novel ubiquitin-ligase RNF5 inhibitors" 2019 ECFS Conference, New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis. 27-30 March 2019, Dubrovnik, Croatia
- Pesce E, Sondo E, Caci E et al. "Characterization of biological activity of RNF5 inhibitors as potential drugs for cystic fibrosis basic defect" 2019 ECFS Conference, New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis. 27-30 March 2019, Dubrovnik, Croatia
- FFC Project#3/2015 "**Relationship between mitochondria and F508del-CFTR in Cystic Fibrosis**" Hugo de Jonge (Dept. of Gastroenterology & Hepatology, Erasmus University Medical Center, Rotterdam, The Netherlands), Sara Caldrell (Dip. di Patologia e Diagnostica, sezione di Patologia Generale - Università di Verona)

### Abstracts

- Caldrell 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
- Bijveldts M, Meijssen K, Peppelenbosch M et al "Chloride and bicarbonate transport in intestinal organoids: differential effects of CFTR modulators and mutations" 17th Scientific Meeting "Organoids as models for disease and treatment in CF" September 21st + 22nd 2017 Schloss Waldhausen/Mainz
- de Jonge H, Meijssen KF, Beekman JM "Correction of abnormalities in bicarbonate transport in CF intestinal organoids by CFTR modulators" North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC), November 2-4, 2017, Indianapolis
- FFC Project#5/2015 "**The plant cytokine kinetin and its analogues as potential therapeutic agents to correct CFTR splicing defects**" Stefano Duga (Università Humanitas, Milano), Lucy Costantino (UOS Lab. di Genetica Medica - Fondazione IRCCS Ca' Granda, Ospedale Maggiore Policlinico, Milano), Christian Orrenius (Computational Sciences Chemical Core Technologies Department - Nerviano Medical Sciences Srl, Nerviano, Milano)

### Publications

- Straniero L, Soldà G, Costantino L et al. "Whole-gene CFTR sequencing combined with digital RT-PCR improves genetic diagnosis of cystic fibrosis" *J Hum Genet* 2016 Dec;61(12):977-984. doi: 10.1038/jhg.2016.101.
- 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" 1<sup>st</sup> YOUNG SCIENTIST WORKSHOP on "Stem cell niche: from basic science to clinical application" Pavia, Italy (May 8-10 2016)
- Vezzali C, Celesti G, Bonfanti C et al. "Mesoangioblasts -vessel associated progenitor cells as a novel cell-based therapy for cystic fibrosis" 14th ECFS Basic Science Conference, 29 March – 01 April 2017, Albufeira, Portugal
- FFC Project#7/2015 "**Aminoarylthiazole derivatives as correctors of the chloride transport defect in novel cystic fibrosis: computer assisted drug design, synthesis and biological evaluation**" Enrico Millo (CEBR, Centro Eccellenza Ricerca Biomedica, Università di Genova), Elena Cichero (Dip. di Farmacia, Sezione di Chimica Medica - Scuola di Scienze Mediche e Farmaceutiche, Università di Genova)

### Publications

- Liessi N, Cichero E, Pesce E et al. "Synthesis and biological evaluation of novel thiazole-VX-809 hybrid derivatives as F508del correctors by QSAR-based filtering tools" *Eur J Med Chem*. 2017 Dec 8;144:179-200.
- 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
- Rossin F, Vilella V, D'Eletto M et al "TG2 regulates the heat shock response by the post-translational modification of HSF1", *Embo Reports*, 2018 May 11. pii: e45067
- Maiuri L, Raia V, Piacentini M et al. "Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) and autophagy: hereditary defects in cystic fibrosis versus gluten-mediated inhibition in celiac disease" *Oncotarget*, 2019 Jul 8;10(43):4492-4500
- FFC Project#9/2015 "**Identification of molecular targets to reduce the side effect of gating potentiators 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 Traslationale - Università di Milano)

### Publications

- Schiumarini D, Loberto N, Mancini G et al. "Evidence for the involvement of lipid rafts and plasma membrane sphingolipid-hydrolases in *Pseudomonas aeruginosa* infection of cystic fibrosis bronchial epithelial cells" *Mediators of Inflammation*, 2017;2017:1730245. doi: 10.1155/2017/1730245. Epub 2017 Dec 3

### Abstracts

- Tamanini A., Loberto N., Mancini G. et al. "New molecular targets to reduce the side effect of potentiators on membrane stability of rescued F508del CFTR protein in respiratory airways" The 30<sup>th</sup> Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, October 27–29, 2016
- Aureli M, Munari S, Mancini G et al. "vx-809 and vx-770 modulate the sphingolipid pattern of bronchial epithelial cell lines: effect on CFTR plasma membrane stabilization" 14<sup>th</sup> ECFS Basic Science Conference, 29 March – 1 April 2017, Albufeira, Portugal
- Mancini G, Munari S, Loberto N et al. "Role of ganglioside GM1 on CFTR stabilization at plasma membrane: a new challenge for the cystic fibro-

- sis therapy" ECFC Basic Science Conference 2018, 21 -24 March 2018, Loutraki Korinthias, Greece
- Mancini G, Munari S, Loberto N et al. "Ganglioside GM1 as new therapeutic strategy to improve CFTR stabilization at plasma membrane" North American Cystic Fibrosis Conference, October 18-20, 2018 , Denver, CO
  - Trabucchi C, Mancini G, Munari S et al. Ganglioside GM1 to stabilize the rescued F508del CFTR" 13<sup>th</sup> Cystic Fibrosis European Young Investigators' meeting (EYIM), February 27-28, March 1, Institut Pasteur, Paris
  - Loberto N, Mancini G, Trabucchi C et al. "Ganglioside GM1 improves the plasma membrane stabilization of F508del-CFTR rescued by the use of CFTR modulators" 2019 ECFS Conference, New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis, 27-30 March 2019, Dubrovnik, Croatia"
- FFC Project#1/2016 "**New generation trimethylangelicin (TMA) analogues for selective modulation of defective CFTR or inflammation**" Adriana Chilin (Dipartimento di Scienze Farmaceutiche e Farmacologiche, Università di Padova)
- Publications
- Lampronti I, Manzione MG, Sacchetti G et al "Differential Effects of Angelicines Analogues on NF-kB activity and IL-8 expression in cystic fibrosis IB3-1cells" Mediators of Inflammation, Volume 2017 (2017), Article ID 2389487
  - Laselva O, Marzaro G, Vaccarin C et al. "Molecular mechanism of action of Trimethylangelicin derivatives as CFTR modulators" Frontiers in Pharmacology 2018, July 4
  - Marzaro G, Lampronti I, D'Aversa E et al "Design, synthesis and biological evaluation of novel trimethylangelicin analogues targeting nuclear factor kB (NF-kB)" European Journal of Medicinal Chemistry 2018 May 10;151:285-293
- Abstracts
- Chilin A, Marzaro G, Lampronti I et al. "New trimethylangelicin analogues as modulators of defective CFTR" 14<sup>th</sup> ECFS Basic Science Conference, 29 March – 01 April 2017, Albufeira, Portugal
  - Chilin A "New generation trimethylangelicin (TMA) analogues for selective modulation of defective CFTR or inflammation" 14<sup>th</sup> Convention of FFC investigators in Cystic Fibrosis, 24-26 nov 2016, Garda, Verona
  - Laselva O, Marzaro G, Lampronti I et al. "Structurally diverse Trimethylangelicin derivatives correct the primary defect in p.Phe508del-CFTR by stabilizing the first membrane-spanning domain" ECFC Basic Science Conference 2018, 21 -24 March 2018, Loutraki Korinthias, Greece
- FFC Project#3/2016 "**MicroRNA Therapeutics in CF: Targeting CFTR and inflammation networks (MicroRNA-CF)**" Roberto Gambari (Dipartimento di Scienze della vita e Biotecnologie, Sezione di Biochimica e Biologia Molecolare, Università di Ferrara), Roberto Corradini (Dipartimento di Chimica, Università di Parma)
- Publications
- Lampronti A, Finotti A, Bianchi N et al "Natural substances in the treatment of cystic fibrosis" Clinical Immunology, Endocrine and Metabolic Drugs 2016, 3, 130-139
  - Fabbri E, Tamanini A, Jakova T et al. "A Peptide Nucleic Acid against MicroRNA miR-145-5p Enhances the Expression of the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) in Calu-3 Cells" Molecules 2017 Dec 29;23(1)
  - Finotti A, Gasparello J, Fabbri E et al. "Enhancing the expression of CFTR using antisense molecules against microRNA miR-145-5p" American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 2019 Feb 27.
  - Gasparello J, Papi C, Zurlo M et al. "Demonstrating specificity of bioactive peptide nucleic acids (PNAs) targeting microRNAs for practical laboratory classes of applied biochemistry and pharmacology" PLoS ONE 2019 Sep 11;14(9):e0221923
- Abstracts
- Bergamini G, Calcaterra E, Tridello G et al. "Sviluppo di un test della funzione CFTR *in vivo*: Misurazione in singole ghiandole sudoripare umane mediante immagini della sudorazione dipendente dal canale difettoso in fibrosi cistica rispetto a quella indipendente" XXII Congresso Italiano Fibrosi Cistica, Salerno, 9-12 Novembre 2016
- FFC Project#4/2016 "**Development of a PI3Ky-derived peptide as a novel F508del-CFTR potentiator**" Alessandra Ghigo (Dipartimento di Biotecnologia Molecolare e Scienze della Salute, Università di Torino)
- Abstracts
- Ghigo A, Murabito A, Ren K et al. "Targeting PI3Ky scaffold function to activate airway CFTR, limit lung inflammation and promote bronchorelaxation in cystic fibrosis" 14<sup>th</sup> ECFS Basic Science Conference, 29 March – 01 April 2017, Albufeira, Portugal
  - Ghigo A, Murabito A, Ren K et al "Targeting PI3Ky scaffold function to activate airway CFTR, limit lung inflammation and promote bronchorelaxation in cystic fibrosis" North American Cystic Fibrosis Conference 2017 - Indianapolis (USA) – November 2-4, 2017
- 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 (CLouvain Center for Toxicology and Applied Pharmacology, Institut de Recherche Expérimentale et Clinique; Université Catholique de Louvain, Brussels, Belgium), 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)
- Publications
- Bergamini G, Tridello G, Calcaterra E et al "Ratiometric sweat secretion optical test in cystic fibrosis, carriers and healthy subjects" Journal of Cystic Fibrosis, 2018 Mar;17(2):186-189
  - Treggiari D, Kleinfelder K, Bertini M et al. "Optical Measurements of Sweat for in Vivo Quantification of CFTR Function in Individual Sweat Glands" J Cyst Fibros. 2021 Sep;20(5):824-827.
- Abstracts
- Teresinha L, Viphonephom P, Hoyep Tchanchou A. et al. "False-positive beta-sweat secretion test" The 30<sup>th</sup> Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, October 27–29, 2016
  - Calcaterra E, Tridello G, Leal T et al. "Sviluppo di un test della funzione CFTR in vivo: misurazione in ghiandole sudoripare umane mediante immagini della sudorazione dipendente dal canale difettoso in fibrosi cistica rispetto a quella indipendente" Congresso Nazionale SIFC, 9-11 Novembre 2016, Salerno
  - Bergamini G, Calcaterra E, Ceri S et al "Testing CFTR function in vivo by imaged ratiometric measurement of beta adrenergic/cholinergic sweat rate in human sweat glands" 17<sup>th</sup> Scientific Meeting "Organoids as models for disease and treatment in CF, September 21st + 22nd 2017 Schloss Waldhausen/Mainz
  - Leal T, Noel S, Bergamini G et al "Topical eye treatment with  $\beta$ -blocker abolishes sweat secretion triggered by intradermal isoprenaline plus aminophylline: a clinical observation" ECFS 40<sup>th</sup> European Cystic Fibrosis Conference, 7-10 Giugno 2017, Siviglia, Spagna
  - Reynaerts A, Melotti P, Vermeulen F et al. "Implémentation d'une version non-invasive, contrôlée par imagerie, du test de sécrétion B-adrénergique de la sueur: aide au diagnostic et marqueur d'efficacité thérapeutique" 19<sup>e</sup> Colloque français des jeunes chercheurs, 20 février 2018, Institut Pasteur, Paris
  - Melotti P, Lecca P, Esposito V et al. "Measurements of beta adrenergic vs cholinergic sweat rates in single human sweat glands" North American Cystic Fibrosis Conference (NACF), October 18-20, 2018, Denver, CO, US
  - Nguyen-Khoa T, Drummond D, Hatton A et al. "Beta-adrenergic sweat secretion measured by evaporimetry allows resolution of inconclusive diagnosis of cystic fibrosis" North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC), October 31 - November 2, 2019 Nashville, TN (USA)
  - Nguyen-Khoa T, Hatto A, Schlatter J et al. "Bêta-adrenergic sweat evaporimetric test in patients with an inconclusive diagnosis of cystic fibrosis" 42<sup>nd</sup> European Cystic Fibrosis Conference, 5-8 June 2019, Liverpool, UK
  - Nguyen-Khoa T, Hatton A, Drummond D et al. "Combination of CFTR functional tests refine CFTR genetic analysis for inconclusive CF diagnosis" North American Cystic Fibrosis Conference (NACF), 21-23 October 2020, virtual conference
- FFC Project#6/2016 "**Understanding the mode of action of regulatory pathways controlling F508del-CFTR proteostasis and developing drugs that rescue F508del-CFTR by targeting these pathways synergistically**" Alberto Luini (Consiglio Nazionale delle Ricerche, Dipartimento Scienze Biomediche, Istituto di Biochimica delle Proteine, Napoli)
- Publications
- Hedge RN, Subramanian A, Pothukuchi P et al. "Rare ER protein misfolding-mis trafficking disorders: Therapeutic developments" Tissue and Cell 2017 Apr;49(2 Pt A):175-185
  - Subramanian A, Capalbo A, Iyengar NR et al. "Auto-regulation of Secretory Flux by Sensing and Responding to the Folded Cargo Protein Load in the Endoplasmic Reticulum" Cell. 2019 Mar 7;176(6):1461-1476.e23.
- FFC Project#7/2016 "**Human intestinal organoids for detecting CFTR rescue molecules in human plasma samples**" Paola Melotti (Centro Fibrosi Cistica, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona)
- Abstracts
- Caldreller S, Baruzzi A, Vercellone S et al "Intestinal epithelial organoids contribute to supporting drug development and diagnosis" 17<sup>th</sup> Scientific Meeting "Organoids as models for disease and treatment in CF" September 21st + 22nd 2017 Schloss Waldhausen/Mainz"



- Calder S, Baruzzi A, Vercellone S et al. "A collection of intestinal epithelial organoids to support the development of drugs and diagnostic in cystic fibrosis by combining CFTR functional tests in personalized medicine" ECFC Basic Science Conference 2018, 21 -24 March 2018, Loutraki Korinthias, Greece
  - Baruzzi A, Calder S, Lecca M et al. "CORVO: a software tool for computing volume of complex biological structures in medical images and videos" SIAM Conference on Imaging Science, Bologna, June 5-8, 2018
  - Lecca P, Lecca M, Calder S et al. "Computing volumes of organoids from 3D confocal acquisition with CORVO" North American Cystic Fibrosis Conference (NACF), October 18-20, 2018, Denver, CO, USA
  - Lecca P, Lecca M, Calder S et al. "Computing volumes of organoids from 3D confocal acquisition with CORVO" North American Cystic Fibrosis Conference (NACF), October 18-20, 2018, Denver, CO, USA
  - Rescigno F, Farinazzo A, Esposito V et al. "CFTR-dependent bicarbonate transport in human rectal biopsies carrying CFTR variants" North American Cystic Fibrosis Conference (NACF), October 18-20, 2018, Denver, CO, USA
  - Pauro F, Rescigno F, Farinazzo A et al. "CFTR modulator therotyping and functional impact of the rare CFTR genotype W57G/A234D in a cystic fibrosis patient" 42nd European Cystic Fibrosis Conference, 5-8 June 2019, Liverpool, UK
  - Farinazzo A, Rescigno F, Esposito V et al. "Selective bicarbonate transport defects in human rectal biopsies with CFTR gene variants" 2019 ECFS Conference, New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis 27-30 March 2019, Dubrovnik, Croatia"
  - Melotti P, Rescigno F, Farinazzo A et al. "Functional impact of the rare CFTR variants W57G/A234D and CFTR modulator therotyping in a CF patient" 2019 ECFS Conference, New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis. 27-30 March 2019, Dubrovnik, Croatia
  - FFC Project#8/2016 "**Identification of the binding sites of CFTR correctors**" Oscar Moran (Istituto di Biofisica, CNR, Genova)
- Publications
- Amico G, Brandas C, Moran O et al. "Unravelling the Regions of Mutant F508del-CFTR More Susceptible to the Action of Four Cystic Fibrosis Correctors" Int. J. Mol. Sci. 2019 Nov 1;20(21). pii: E5463
- Abstracts
- Moran O "Correction of the CFTR folding defect: a pessimistic view of the state of the art. Biophysical approaches to protein folding and disease" European Biophysics Societies Association 2017 Satellite Meeting, Edinburgh, United Kingdom, 20-21 July, 2017
  - Moran O "Structural insights into the action of CFTR modulators" ECFS Conference, Sevilla, Spain, 7-10 June, 2017
- FFC Project#10/2016 "**Modulation of proteinkinase CK2 in the regulation of chaperone machinery leading the F508del-CFTR fate**" Mauro Salvi (Dipartimento di Scienze Biomediche, Università di Padova)
- Publications
- Franchin C, Borgo C, Cesaro L et al "Re-evaluation of protein kinase CK2 pleiotropy: new insights provided by a phosphoproteomics analysis of CK2 knockout cells" Cellular and Molecular Life Sciences 2018 Jun;75(11):2011-2026.
  - Borgo C, Vilardell J, Travain-Bosello V et al. "Dependence of HSP27 cellular level on protein kinase CK2 discloses novel therapeutic strategies" BBA - General Subjects 2018 Dec;1862(12):2902-2910
- FFC Project#11/2016 "**Myriocin potential as a phenotype-modifying herapeutical in cystic fibrosis**" Paola Signorelli (Dipartimento di Scienze della Salute, Ospedale San Paolo, Università di Milano)
- Publications
- Caretti A, Vasso M, Bonezzi FT et al "Myriocin treatment of CF lung infection and inflammation: complex analyses for enigmatic lipids" Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 2017 Aug;390(8):775-790.
  - Dei Cas M, Zulueta A, Mingione A et al. "An Innovative Lipidomic Workflow to Investigate the Lipid Profile in a Cystic Fibrosis Cell Line" Cells 2020 May; 9(5): 1197
  - Mingione A, Dei Cas M, Bonezzi F et al. "Inhibition of Sphingolipid synthesis as a phenotype-modifying therapy in cystic fibrosis" Cellular Physiology and Biochemistry 2020 Jan 31;54(1):110-125
  - Mingione A, Ottaviano E, Barcella M et al. "Cystic Fibrosis Defective Response to Infection Involves Autophagy and Lipid Metabolism" Cells 2020 Aug 6;9(8):E1845
  - Signorelli P, Pivari F, Barcella M et al. "Myriocin modulates the altered lipid metabolism and storage in cystic fibrosis" Cell Signal. 2021 May;81:109928.
- FFC Project#12/2016 "**Properties of airway mucus in cystic fibrosis: their modification by changes in the activity of CFTR and after application of bicarbonate**" Loretta Ferrera (U.O.C. Genetica Medica, Istituto "Giannina Gaslini", Genova)
- Publications
- Ferrera L, Baroni D, Moran O "Lumacaftor-rescued F508del-CFTR has a modified bicarbonate permeability" Journal of Cystic Fibrosis 2019 Feb 6. pii: S1569-1993(18)30927-5
- Abstracts
- Ferrera L, Gianotti A, Delpiano L et al. "Bicarbonate directly reduces the mucus micro-viscosity in primary bronchial cells monolayers" ECFC Basic Science Conference 2018, 21 -24 March 2018, Loutraki Korinthias, Greece
  - Moran O, Baroni D, Ferrera L "Lumacaftor-rescued 508del-CFTR has a reduced bicarbonate permeability" ECFC Basic Science Conference 2018, 21 -24 March 2018, Loutraki Korinthias, Greece
  - Baroni D, Moran O and Ferrera L "Lumacaftor-rescued F508del-CFTR has a reduced bicarbonate permeability" 15th ECFS Basic Science Conference, Loutraki (Greece), March 21-24, 2018
  - Ferrera L, Gianotti A, Delpiano L et al. "Bicarbonate directly reduces the mucus micro-viscosity in primary bronchial cells monolayers" 15th ECFS Basic Science Conference, Loutraki (Greece), March 21-24, 2018
- FFC Project#1/2017 "**SpliceFix: fixing splicing defects in the CFTR gene through CRISPR/Cas9 technology**" Anna Cereseto (Centro per la Biologia Integrata - CIBIO, Università degli Studi di Trento), Zeger Debyser (Lab. for Molecular Virology & Gene Therapy, Center for Molecular Medicine, Faculty of Medicine, KU Leuven); Daniele Arosio (Istituto di Biofisica, CNR, Trento)
- Publications
- Maule G, Casini A, Montagna C et al. "Allele specific repair of splicing mutations in cystic fibrosis through AsCas12a genome editing" Nature Communications, 2019 Aug 7;10(1):3556.
  - Maule G, D'Arosio D, Cereseto "Gene Therapy for Cystic Fibrosis: Progress and Challenges of Genome Editing" International Journal of Molecular Sciences 2020, 21(11), 3903
- Abstracts
- Maule G, Casini A, Montagna C et al. "Permanent repair of splicing defect in cystic fibrosis through AsCas12a genome editing" European Society of Gene and Cell Therapy (ESGCT) - Changing Modern Medicine: Stem Cells & Gene, Lousanne, Switzerland, October 16-19, 2018
  - Maule G, Ramalho A, Arosio D et al. "Genome editing strategies to restore altered splicing events in cystic fibrosis" 12th European CF Young Investigators' Meeting (EYIM), Paris, Institute Pasteur, February 21-23, 2018 (best oral presentation)
- FFC Project#2/2017 "**Identification of deubiquitinases and ubiquitin ligases that affect mutant CFTR rescue**" Luis JV Galiotta (Istituto Telethon di Genetica e Medicina - TIGEM, Napoli)
- Publications
- Pesce E, Sondo E, Ferrera L et al. "The Autophagy Inhibitor Spautin-1 Antagonizes Rescue of Mutant CFTR Through an Autophagy-Independent and USP13-Mediated Mechanism" Frontiers in Pharmacology 2018 Dec 13;9:1464
- FFC Project#3/2017 "**Optimization of a new lead promoting the readthrough of nonsense mutations for the CFTR rescue in human CF cells**" Laura Lentini (Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche Chimiche e Farmaceutiche, Sez. Biologia Cellulare, Università degli Studi di Palermo), Ivana Pibiri (Dip. di Scienze e Tecnologie Biologiche Chimiche e Farmaceutiche, Sez. Biochimica, Università degli Studi di Palermo)
- Publications
- Pibiri I, Lentini L, Melfi R et al. "Rescuing the CFTR protein function: Introducing 1,3,4-oxadiazoles as translational readthrough inducing drugs" European Journal of Medicinal Chemistry 2018 Nov 5;159:126-142.
  - Campofelice A, Lentini L, Di Leonardo A et al. "Strategies against Nonsense: Oxadiazoles as Translational Readthrough-Inducing Drugs (TRIDs)" Molecular Science 2019 Jul 6;20(13).
  - Tutone M, Pibiri I, Lentini L et al. "Deciphering the Nonsense Readthrough Mechanism of Action of Ataluren: An in Silico Compared Study" ACS Medicinal Chemistry Letters 2019 Feb 7;10(4):522-527
  - Melfi R, Cancemi P, Chiavetta R et al. "Investigating REPAIRv2 as a Tool to Edit CFTR mRNA with Premature Stop Codons" International Journal of Molecular Sciences 2020 Jul; 21(13): 4781
  - Pibiri I, Melfi R, Tutone M et al. "Targeting Nonsense: Optimization of 1,2,4-Oxadiazole TRIDs to Rescue CFTR Expression and Functionality in Cystic Fibrosis Cell Model Systems International" Journal of Molecular Sciences 2020 Sep 3;21(17):E6420
  - Tutone M, Pibiri I, Perriera R et al. "Pharmacophore-Based Design of

New Chemical Scaffolds as Translational Readthrough-Inducing Drugs (TRIDs)" ACS Med. Chem. Lett. 2020, 11, 5, 747–753

#### Abstracts

- Lentini, Melfi R, Tutone M et al. "Identification of a new molecule with readthrough activity to rescue CFTR protein function" 5<sup>o</sup> meeting biotecnologie, ricerca di base, interdisciplinare, traslazionale in ambito biomedico, Palermo, 5-6 luglio 2018
- Pibiri, Lentini L, Tutone M et al. "Rescuing CFTR Protein Function: 1,3,4-oxadiazoles versus 1,2,4-oxadiazoles as readthrough inducing drugs" Italian-Spanish-Portuguese joint Meeting in Medicinal Chemistry MedChemSicily, Palermo 17-18 Luglio 2018
- Lentini L "Rescuing mutant CFTR in cystic fibrosis by genetic drugs" XIII Summer School on Advanced Biotechnology, Orto Botanico, Palermo, 2-5 Settembre 2018
- Lentini L, Pibiri I, Melfi R "Rescue of nonsense mutations by novel readthrough molecules in biological model systems and in cystic fibrosis cells" Convegno AGI, 7-9 Settembre 2017, Cortona
- Campofelice A, Culetta G, Tutone M et al. "Uno studio comparativo in silico sui possibili target di Ataluren e analoghi farmaci promotori di readthrough di codoni di stop prematuri" Convegno congiunto delle Sezioni di Calabria e Sicilia 2019. Palermo, 1-2 marzo 2019
- Campofelice A, Ricco Galluzzo P, Lentini L et al. "New molecules as translational readthrough promoters of nonsense mutations: rescuing the CFTR protein" XXXIX Convegno nazionale della Divisione di Chimica Organica della Società Chimica Italiana, Torino, 8-12 settembre 2019
- Pibiri I, Pace A, Tutone M et al. "Derivati ossadiazolici per il trattamento della fibrosi cistica: readthrough di mutazioni nonsense" Convegno congiunto delle Sezioni di Calabria e Sicilia 2019. Palermo, 1-2 marzo 2019
- Campofelice A, Ricco Galluzzo P, Lentini L et al. "New molecules as translational readthrough promoters of nonsense mutations: rescuing the CFTR protein" XXXIX Convegno Nazionale della Divisione di Chimica Organica, CDCCO, 8-12 settembre 2019, Torino
- Bongiorno R, Lentini L, Pace A, Pibiri I "Combining translation readthrough inducing drugs and nonsense mediated decay pathway inhibition to the CFTR rescue in cystic fibrosis cell model system" Journal of Biological Research 2021; volume 94:(s1).
- Perriera R, Pibiri I, Corrao F, Pace A, Lentini L "The innovative role of the readthrough inducing drugs in the translation rescue of mRNAs characterized by premature stop codon (PTCs)" Convegno dell'Associazione Genetica Italiana (AGI) Online edition 22-24 September 2021

- FFC Project#6/2017 "**Pharmacophore and pharmacokinetic filtering tools guiding for the design and synthesis of novel thiazole-containing and VX-809 hybrid derivatives as F508del correctors**" Enrico Millo (Centro di Eccellenza per la Ricerca Biomedica - CEBR, Università degli Studi di Genova), Elena Cichero (Dip. di Farmacia, Sezione di Chimica Medica - Scuola di Scienze Mediche e Farmaceutiche, Università di Genova)

#### Publications

- Parodi A, Righetti G, Pesce E et al. "Discovery of novel VX-809 hybrid derivatives as F508del-CFTR correctors by molecular modeling, chemical synthesis and biological assays" European Journal of Medicinal Chemistry, Volume 208, 15 December 2020, 112833
- Liessi N, Pesce E, Salis A et al. "Synthesis and Structure-activity Relationship of Aminoarylthiazole Derivatives as Potential Potentiators of the Chloride Transport Defect in Cystic Fibrosis" Med Chem. 2021;17(6):646-657.
- Righetti G, Casale M, Liessi N et al. "Molecular Docking and QSAR Studies as Computational Tools Exploring the Rescue Ability of F508del CFTR Correctors" Int J Mol Sci. 2020 Oct 29;21(21):8084.
- Righetti G, Casale M, Tonelli M et al. "New Insights into the Binding Features of F508del CFTR Potentiators: A Molecular Docking, Pharmacophore Mapping and QSAR Analysis Approach" Pharmaceuticals (Basel). 2020 Dec 4;13(12):445.

#### Abstracts

- Righetti G, Liessi N, Pesce E et al. "Computational approaches for the design and chemical synthesis of novel F508del correctors in the treatment of cystic fibrosis" IX Giornate Italo-Francesi di Chimica, Genova, 16-18 aprile 2018
- Righetti G, Liessi N, Pesce E et al. "Scouting the mechanism of action of VX-809 and other F508del-CFTR correctors chemo-types by computational methods" European School of Medicinal Chemistry ESMEC, July, 1-5, 2018, Urbino, Italy

- FFC Project#8/2017 "**A novel Full Thickness Cystic Fibrosis model on a microfluidic chip to study pathogenic mechanisms and evaluate therapeutic strategies**" Paolo Netti (Centro per Biomateriali avanzati per la Sanità - CRIB, Istituto Italiano di Tecnologia, Napoli), Diego di

Bernardo (Centro di Ricerca Interdipartimentale sui Biomateriali, Università degli Studi di Napoli Federico II)

#### Publications

- Genovese M, Borrelli A, Venturini A et al. "TRPV4 and purinergic receptor signalling pathways are separately linked in airway epithelia to CFTR and TMEM16A chloride channels" Journal of Physiology 2019 Oct 17. doi: 10.1113/JP278784
- Mazio C, Scognamiglio LS, De Cegli R et al. "Intrinsic Abnormalities of Cystic Fibrosis Airway Connective Tissue Revealed by an In Vitro 3D Stromal Model" Cells 2020 Jun 1;9(6):1371.

#### Abstracts

- Mazio C, Scognamiglio LS, Casale C et al. "Development of a 3D Full thickness cystic fibrosis model on chip" 41st European Cystic Fibrosis Conference, Belgrade, Serbia, 6-9 June 2018
- Scognamiglio LS, Mazio C, Casale C et al. "Development of a 3D full thickness cystic fibrosis model on chip" ThermoSchool2018, University of Trento, 18-22 June 2018

- FFC Project#9/2017 "**RNF5 inhibitors as potential drugs for Cystic Fibrosis basic defect**" Nicoletta Pedemonte (Istituto "G. Gaslini", U.O.C. Genetica Medica, Genova)

#### Abstracts

- Tomati V, Sondo E, Pesce E et al. "Novel regulators of F508del-CFTR identified by means of a functional genomics approach in human bronchial epithelial cells: possible mechanisms of action" North American Cystic Fibrosis Conference (NACF), October 18-20, 2018, Denver, CO, USA

#### Publications

- Amaral DM, Hutt DM, Tomati V et al. "CFTR processing, trafficking and interactions" Journal of Cystic Fibrosis 2020 Mar;19 Suppl 1:S33-S36
- Lopes-Pacheco M, Pedemonte N, Kicic A "Editorial: emerging therapeutic approaches for cystic fibrosis" Frontiers in Pharmacology, 2019 Nov 29;10:1440
- Pesce E, Pedemonte N, Leoni A et al. "Synthesis and biological evaluation of thiazole derivatives on basic defects underlying cystic fibrosis" Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 2020 Aug 9;30(21):127473

- FFC Project#10/2017 "**Alternative strategies for F508del-CFTR repair: novel targets for drug discovery approach in cystic fibrosis**" Giorgio Cozza (Dipartimento di Medicina Molecolare, Università degli Studi di Padova), Antonella Tosco (Dip. di Scienze mediche traslazionali, Università di Napoli Federico II, Centro Regionale Fibrosi Cistica); Eleonora Ferrari (IERFC presso Istituto San Raffaele, Milano)

#### Publications

- Purzner T, Purzner J, Buckstaff T et al "Developmental phosphoproteomics identifies the kinase CK2 as a driver of Hedgehog signaling and a therapeutic target in medulloblastoma" Science Signaling 2018 Sep 11;11(547).
- Cozza G, Zonta F, Dalle Vedove A et al "Biochemical and cellular mechanism of protein kinase CK2 inhibition by deceptive curcumin" FEBS J 2019 Oct 29

- FFC Project#11/2017 "**Development of a peptide derived from the enzyme PI3Ky as a new and effective potentiator of the mutant F508del-CFTR**" Alessandra Ghigo (Dipartimento di Biotecnologie Molecolari e Scienze per la Salute, Università degli Studi di Torino)

#### Abstracts

- Ghigo A, Murabito A, Ren K et al. "Development of a PI3Ky-derived peptide as a standalone therapy to activate F508del-CFTR, limit lung inflammation and promote bronchorelaxation in Cystic Fibrosis" 15th ECFS Basic Science Conference – Loutraki (Greece) – March 21-24, 2018
- Murabito A, Ren K, Pirozzi F et al. "Exploiting a PI3Ky Mimetic Peptide as a standalone drug to restore CFTR function, reduce inflammation and limit obstruction of the respiratory tract in cystic fibrosis" SIBBM 2018, Frontiers in Molecular Biology, Rome, Italy, June 20-22, 2018
- Murabito A, Ren K, Pirozzi F et al. "Exploiting a PI3Ky Mimetic Peptide as a standalone drug to restore CFTR function, reduce inflammation and limit obstruction of the respiratory tract in cystic fibrosis" 15th ECFS Basic Science Conference – Loutraki (Greece) – March 21-24, 2018
- Murabito A, Ren K, Melotti P et al. "Exploiting a PI3KI mimetic peptide as a single molecule with three independent therapeutic benefits in cystic fibrosis" North American Cystic Fibrosis Conference (NACF), October 18-20, 2018, Denver, CO, USA
- Murabito A, Li M, Melotti P et al. "Exploiting a PI3Ky mimetic peptide as a CFTR modulator in cystic fibrosis" North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC), October 31 - November 2, 2019 Nashville, TN (USA)
- Murabito A, Sala V, Butnarusu CS et al. "Inhaled therapy with a cell-permeable PI3KG mimetic peptide to limit bronchoconstriction and lung inflammation in cystic fibrosis" North American Cystic Fibrosis Confer-

- ence (NACFC), October 31 - November 2, 2019 Nashville, TN (USA)
- Murabito A, Sala V, Butnaru CS et al. "Inhaled therapy with a cell-permeable PI3Kgamma mimetic peptide to limit bronchoconstriction and lung inflammation in cystic fibrosis" 2019 ECFS Conference, New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis. 27-30 March 2019, Dubrovnik, Croatia
  - FFC Project#12/2017 "**Modulation of protein kinases in the regulation of chaperone machinery leading F508del-CFTR fate**" Mauro Salvi (Dipartimento di Scienze Biomediche, Università degli Studi di Padova)
- Publications
- D'Amore C, Salizzato V, Borgo C et al. "A Journey through the Cytoskeleton with Protein Kinase CK2" *Curr Protein Pept Sci* 2019 20(6):547-562.
  - D'Amore C, Borgo C, Bosello-Travain V et al. "Deciphering the role of protein kinase CK2 in the maturation/stability of F508del-CFTR" *BBA - Molecular Basis of Disease* 2020 Mar 1;1866(3):165611
  - FFC Project#1/2018 "**Proteomic profiling of F508del-CFTR cells to identify new pharmacological targets for CF**" Andrea Armirotti (Analytical Chemistry Facility, Fondazione Istituto Italiano di Tecnologia, Genova)
- Publications
- Braccia C, Tomati V, Caci E et al. "SWATH label-free proteomics for cystic fibrosis research" *Journal of Cystic Fibrosis*, 2018 Oct 19. pii: S1569-1993(18)30855-5
  - Armirotti A, Tomati V, Matthes E et al. "Bioactive Thymosin Alpha-1 Does Not Influence F508del-CFTR Maturation and Activity" *SCI REP* 2019 Jul 16;9(1):10310
  - Liessi N, Pedemonte N, Armirotti A et al. "ArnT inhibitors for Cystic Fibrosis Research" *International Journal of Molecular Sciences*, 2020 Aug; 21(15): 5439
  - Liessi N, Pedemonte N, Armirotti A et al. "Proteomics and Metabolomics for Cystic Fibrosis Research" *Int J Mol Sci.* 2020 Jul 30;21(15):5439.
- Abstracts
- Braccia C "Proteomic profiling of mutated-CFTR expressing cells identify new pharmacological targets for cystic fibrosis" 3rd IMASS Network Congress (Parma, Italy, May 2019)
  - Braccia C, Tomati V, Caci E et al. "Proteomic profiling of F508del-CFTR expressing cells to identify new pharmacological targets for cystic fibrosis" *Proteomic Forum* 2019, XIII. Annual Congress of the European Proteomics Association: From Genes via Proteins and their Interactions to Functions March 24–28, 2019, Potsdam, Germany"
  - FFC Project#2/2018 "**Lipid-based therapeutic strategies to optimize the effectiveness of innovative drugs to rescue F508del-CFTR**" Massimo Aureli (Università di Milano, Dip. Biotecnologie Mediche e Medicina Traslazionale), Anna Tamanini (Lab. Patol. Molecolare, UOC Laboratorio Analisi, Dip. Patologia e Diagnostica, AOUI Verona)
- Publications
- Lobero N, Mancini G, Bassi R et al. "Sphingolipids and plasma membrane hydrolases in human primary bronchial cells during differentiation and their altered patterns in cystic fibrosis" *Glycoconjugate Journal*, 2020 Jul 14.
  - Mancini G, Lobero N, Oliosio D et al. "GM1 as Adjuvant of Innovative Therapies for Cystic Fibrosis Disease" *International Journal of Molecular Sciences* 2020 Jun 24;21(12):4486
  - FFC Project#4/2018 "**Towards the discovery of new correctors based on nitrogen heterocyclic systems**" Paola Barraja (Università degli Studi di Palermo, Dip. di Scienze e Tecnologie Biologiche, Chimiche e Farmaceutiche - STEBICEF, Lab. Sintesi degli Eterocicli), Paolo Scudieri (Telethon Institute of Genetics and Medicine, TIGEM)
- Publications
- Carbone A, Montalbano A, Musante I et al. "Furocoumarins as multi-target agents in the treatment of cystic fibrosis" *European Journal of Medicinal Chemistry* (2019), 180, 283
  - Spanò V, Barreca M, Cilibrasi V et al. "Evaluation of Fused Pyrrolothiazole Systems as Correctors of Mutant CFTR Protein" *Molecules*. 2021 Feb 26;26(5):1275.
- Abstracts
- Scudieri P, Musante I, Spanò V et al. "Determination of drug sensitivity of orphan CFTR mutations: no patient left behind" *North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC)*, October 31 - November 2, 2019 Nashville, TN (USA)
  - Spanò V, Montalbano A, Musante I et al. "Discovery of new second site correctors of Cystic Fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR)" *XXVI National Meeting in Medicinal Chemistry, Milan, Ca' Granda, July 16-19, 2019*
  - FFC Project#3/2018 "**Dissecting the rescue mechanisms mediated by CFTR correctors**" Debora Baroni (Ist. Biofisica, CNR, Genova)
- Publications
- Brandas C, Ludovico A, Parodi A et al. "NBD2 Is Required for the Rescue of Mutant F508del CFTR by a Thiazole-Based Molecule: A Class II Corrector for the Multi-Drug Therapy of Cystic Fibrosis" *Biomolecules*. 2021 Oct; 11(10): 1417
  - FFC Project#6/2018 "**Intestinal organoids for assessment and pharmacological correction of abnormalities in fluid transport and anion currents in patients affected by pancreatitis**" Luca Frulloni (Università degli Studi di Verona, Dip. Medicina, Unità di Gastroenterologia), Vincenzina Lucidi (Ospedale Bambino Gesù, Roma); Hugo de Jonge (Dept. of Gastroenterology & Hepatology, Erasmus University Medical Center, Rotterdam, The Netherlands)
- Publications
- Caldreller S, Bergamini G, Sandri A et al. "Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator functional evaluations in a G542X+/IVS8Tn: T7/9 patient with acute recurrent pancreatitis" *World Journal of Clinical Cases*, 2019 Nov 26;7(22):3757-3764
  - FFC Project#7/2018 "**Revealing the microRNAs-transcription factors network in cystic fibrosis: from microRNA therapeutics to precision medicine (CF-miRNA-THER)**" Roberto Gambari (Università degli Studi di Ferrara, Dip. di Scienze della Vita e Biotecnologia, Sez. Biochimica e Biologia molecolare), Roberto Corradini (Università degli Studi di Parma, Dip. di Chimica, Scienze della Vita e Sostenibilità ambientale)
- Publications
- Finotti A, Fabbri E, Lampronti I et al. "MicroRNAs and Long Non-coding RNAs in Genetic Diseases" *Molecular Diagnosis & Therapy*, 2019 Jan 4.
  - Gasparello J, Manicardi A, Casnati A et al. "Efficient cell penetration and delivery of peptide nucleic acids by an argininocalix[4]arene" *SCI REP* 2019 Feb 28;9(1):3036.
  - Manicardi A, Gambari R, de Cola et al. "Preparation of Anti-miR PNAs for Drug Development and Nanomedicine" *Methods in Mol Biol* 2018;1811:49-63.
  - Gambari R "Targeting microRNAs in Cystic Fibrosis (CF)" *International Journal of Molecular Medicine* 44: supplement, 2019, page S22
  - Gambari R, Gasparello J, Fabbri E et al. "Peptide Nucleic Acids for MicroRNAs Targeting" *Methods in Mol Biol. submitted*
  - Sultan S, Fabbri E, Tamanini A et al. "A PNA-based masking strategy for CFTR upregulation by targeting miR-145-5p binding sites of CFTR mRNA" *International Journal of Molecular Medicine* 44: supplement, 2019, page S22
  - Manicardi A, Gambari R, de Cola et al. "Preparation of Anti-miR PNAs for Drug Development and Nanomedicine" *Methods in Mol Biol*, 2018;1811:49-63.
  - Fabbri E, Tamanini A, Jakova T et al. "Treatment of human airway epithelial Calu-3 cells with a peptide-nucleic acid (PNA) targeting the microRNA miR-101-3p is associated with increased expression of the cystic fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) gene" *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2 October 2020, 112876
  - Gambari R, Gasparello J, Fabbri E et al. "Peptide Nucleic Acids for MicroRNA Targeting" *Methods Mol Biol.* 2020;2105:199-215
  - Gasparello J, Lomazzi M, Papi C et al. "Efficient delivery of MicroRNA and AntimiRNA molecules using an Argininocalix[4]arene macrocycle" *Molecular Therapy - Nucleic Acids* 2019 Dec 6;18:748-763
  - Sultan S, Rozzi A, Gasparello J et al. "A Peptide Nucleic Acid (PNA) Masking the miR-145-5p Binding Site of the 3'UTR of the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) mRNA Enhances CFTR Expression in Calu-3 Cells" *Molecules* 2020 Apr 5;25(7):1677
  - Tamanini A, Fabbri E, Jakova T et al. "A Peptide-Nucleic Acid Targeting miR-335-5p Enhances Expression of Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) Gene with the Possible Involvement of the CFTR Scaffolding Protein NHERF1" *Biomedicines*. 2021 Jan 26;9(2):117.
  - Cabrini G, Rimessi A, Borgatti M et al. "Role of Cystic Fibrosis Bronchial Epithelium in Neutrophil Chemotaxis" *Front Immunol.* 2020 Aug 4;11:1438.
  - FFC Project#8/2018 "**In depth-characterization of the molecular mechanisms underlying PI3K-mediated regulation of CFTR**" Emilio Hirsch (Università degli Studi di Torino, Dip. Biotecnologia molecolare e Scienze per la Salute, Centro di Biotecnologia Molecolare)
- Publications
- Sala V, Murabito A, Ghigo A "Inhaled Biologicals for the Treatment of Cystic Fibrosis" *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov.* 2019;13(1):19-26

- Sala V, Della Sala A, Ghigo A et al. "Roles of phosphatidyl inositol 3 kinase gamma (PI3K $\gamma$ ) in respiratory diseases" *Cell Stress*. 2021 Mar 8;5(4):40-51.

#### Abstracts

- Sala V, Murabito A, Butnarusu CS "Drug-like properties of an inhaled peptide-based therapy for Cystic Fibrosis" ECFs Hands-On Workshop on Epithelial Systems: Physiology and Pathophysiology, Lisbon, Portugal, 22-26 July, 2019
- Ghigo A, Sala V, Murabito A et al. "A PI3K $\gamma$  mimetic peptide enhances the therapeutic effects of CFTR correctors and potentiators via coordinated activation of luminal CFTR and basolateral CA2+-activated K+ channels" North American Cystic Fibrosis Conference (NACF), 21-23 October 2020, virtual conference
- Murabito A, Li M, Raimondi A et al. "Characterisation of the molecular mechanisms underlying PI3K $\gamma$ -dependent stabilisation of CFTR at the plasma membrane" 43rd European Cystic Fibrosis Conference – 2020 (ECFC), virtual conference
- FFC Project#9/2018 **"Therapeutic potential of a long-acting lung-specific DNase (DNase2b) for the treatment of CF"** Gianfranco Pasut (Università degli Studi di Padova, Dip. Scienze Farmaceutiche e Farmacologiche), Riccardo Percudani (Università degli Studi di Parma, Dip. Scienze Chimiche, della Vita, e della Sostenibilità ambientale)

#### Publications

- Delfino D, Mori G, Rivetti C et al. "Actin-Resistant DNase1L2 as a Potential Therapeutics for CF Lung Disease" *Biomolecules*. 2021 Mar 10;11(3):410.
- FFC Project#10/2018 **"Dissecting the mechanism of action of the TG2 inhibitor cysteamine on Cystic Fibrosis"** Mauro Piacentini (Università Roma Tor Vergata, Dip. Biologia), Luigi Maiuri (Istituto Europeo Ricerca Fibrosi Cistica - IERFC c/o Istituto San Raffaele, Milano), Giovanni Delogu (Università Cattolica del Sacro Cuore, Fondazione Policlinico Gemelli, Istituto di Microbiologia, Roma)

#### Publications

- Vilella VR, Esposito S, Ferrari E et al. "Autophagy suppresses the pathogenic immune response to dietary antigens in cystic fibrosis" *Cell Death and Disease*, 2019 Mar 15;10(4):258
- Esposito S, Vilella VR, Ferrari E et al. "Genistein antagonizes gliadin-induced CFTR malfunction in models of celiac disease" *Aging* 2019 Apr 12. doi: 10.18632/aging.101888.
- Vilella VR, Speranza E, Ferrari E et al. "Autophagy suppresses the pathogenic immune response to dietary antigens in cystic fibrosis" *Cell Death and Disease* (2019) 10:258
- Di Rienzo M, Mauro Piacentini M, Fimia GM "A TRIM32-AMBRA1-ULK1 complex initiates the autophagy response in atrophic muscle cells" *Autophagy*. 2019 Sep;15(9):1674-1676
- Di Rienzo M, Romagnoli A, Antonioli M "TRIM proteins in autophagy: selective sensors in cell damage and innate immune responses" *Cell Death Differ*. 2020 Mar;27(3):887-902
- FFC Project#11/2018 **"Rescuing defective CFTR applying a drug repositioning strategy based on computational studies, surface plasmon resonance and cell-based assays"** Marco Rusnati (Università degli Studi di Brescia, Dip. Medicina Molecolare e Traslazionale, Sez. Oncologia e Immunologia), Paola Fossa (Università degli Studi di Genova, Dip. di Farmacia), Alessandro Orro (Istituto di Tecnologie biomediche, CNR, Milano)

#### Publications

- D'Ursi et al. "Exploitation of a novel biosensor based on the full-length human F508del-CFTR with computational studies, biochemical and biological assays for the characterization of a new Lumacaftor/Tezacaftor analogue" *Sensor and Actuators B: Chemical*, 2019 301:127131

#### Abstracts

- Khabibulina L, Fossa P "La strategia di riposizionamento di farmaci: un utile approccio per identificare nuovi composti per la terapia di fibrosi cistica" Tesi di Laurea in Chimica e Tecnologia Farmaceutica, Università degli Studi di Genova, Scuola di Scienze Mediche e Farmaceutiche (A.A. 2018-19)
- Uggeri M, Orro A, Urbinati C et al. "Multidisciplinary approaches to rescue CFTR impairments by drug repositioning" BITS 2019, Bioinformatics Italian Society, Annual Meeting 2019, June 26-28, Palermo
- Uggeri M, Orro A, Urbinati C et al. "Rescuing defective CFTR applying a drug repositioning strategy" XXVI National Meeting in Medicinal Chemistry, XII Young Medicinal Chemists' Symposium, Milan, Ca' Granda, July 16-19, 2019

- FFC Project#12/2018 **"Establishment of Conditionally Reprogrammed Airway Epithelial Stem Cell cultures from nasal epithelia of Cystic Fibrosis patients: exploring response to CFTR-modulating drugs for correlation with genetic profile (theratyping) and restoring CFTR function through gene editing approaches"** Adriana Eramo (Dip. Oncologia e Medicina Molecolare, Istituto Superiore di Sanità), Marco Lucarelli (Dip. Biotecnologie Cellulari e Ematologia, La Sapienza, Roma)

#### Publications

- Sette G, Lo Cicero S, Blaonà G et al. "Theratyping cystic fibrosis in vitro in ALL-culture and organoid models generated from patient-derived nasal epithelial Conditionally Reprogrammed Stem Cells" *Eur Respir J*. 2021 Aug 19;2100908

#### Abstracts

- Bruno SM, Blaonà G, Pierandrei S et al. "Characterization of three novel CFTR insertions and therapeutic response to modulatory treatment" XXVII Congresso Italiano della Società Italiana per lo studio della Fibrosi Cistica – XVII Congresso Nazionale della Società Italiana per lo Studio della Fibrosi Cistica – Napoli, 20-23 ottobre 2021.

- FFC Project#13/2018 **"Testing intestinal organoids for the prediction of response to CFTR potentiators and correctors used in clinic"** Claudio Sorio (Università degli Studi di Verona, Dip. di Medicina)

#### Publications

- Caldres S, Bergamini G, Sandri A et al. "Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator functional evaluations in a G542X+/-IVS8Tn:T7/9 patient with acute recurrent pancreatitis" *World Journal of Clinical Cases*, submitted

#### Abstracts

- Kleinfelder K, Bertini M, Vicentini R et al. "Preliminary Evaluation of Corrector/Potentiator of CFTR in Patients with Cystic Fibrosis (CF) Homozygous for F508del mutation by Ratiometric Sweat Secretion Optical (RSSO) Test" 16th Annual Meeting European Cystic Fibrosis Society Diagnostic Network Working Group, 14-16 February 2019 - Tunis, Tunisia
- Kleinfelder K, Lecca P, Bertini M et al. "Use of Optical Ratiometric Rate Sweat test for evaluating CFTR function in cystic fibrosis patients" 12th European CF Young Investigators Meeting (EYIM), Paris, 27 February - 1 March 2019
- Lecca P, Bertini M, Vicentini R et al. "Multilinear regression analysis of sweat secretion volumes in cystic fibrosis patients" 23rd IEEE FRUCT Conference, Bologna 13-16 November 2018, Italy
- Sorio C "Nuovi approcci per la caratterizzazione funzionale di mutazioni in FC" 15th Meeting Nazionale della Società Italiana per lo Studio della Fibrosi Cistica (SIFC), 3-4 May 2019 – Rimini, Italy
- Sorio C "Potentiators and Correctors Therapy in Cystic Fibrosis" XLIII Congresso Nazionale Associazione Italiana per lo Studio del Pancreas (AISP), 19-21 Settembre 2019 – Verona, Italy
- Conti J, Kleinfelder K, Lotti V et al. "Functional characterisation of c.1584+18672bpA>G/2183AA>G CFTR variant in rectal organoids" 43rd European Cystic Fibrosis Conference – 2020 (ECFC), virtual conference
- Lotti V, Kleinfelder K, Farinazzo A et al. "Response to ivacaftor of the rare CFTR variants W57G and A234D in intestinal organoids and Fisher Rat Tyroid (FRT) cells" 43rd European Cystic Fibrosis Conference – 2020 (ECFC), virtual conference
- Sorio C, CFF Theratyping Group, Lotti V et al. "CFTR modulator theratyping using intestinal organoids from a CF patient and Fisher Rat Tyroid (FRT) cells expressing the rare CFTR variants W57G and A234D" Basic Science ECFs Conference 2020
- Sorio C, Lotti V, Kleinfelder K et al. "Functional impact of a rare / varying clinical consequence CFTR variants W57G/A234D CFTR genotype and theratyping using rectal organoids" AMP Europe 2020 - Clinical Genomics: Beyond the Somatic Mutation

- FFC Project#2/2019 **"Bridging airway mucus-microbiota-host genotype to define novel cystic fibrosis animal models"** Alessandra Bragonzi (Unità Infezioni e Fibrosi cistica, Divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie Infettive, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano), Giacomo Rossi (Università di Camerino, Sez. di Patologia Veterinaria)

#### Publications

- Cigana C, Ranucci S, Rossi A et al. "Antibiotic efficacy varies based on the infection model and treatment regimen for *Pseudomonas aeruginosa*" *European Respiratory Journal*, 2019 Oct 17. pii: 1802456.

#### Abstracts

- Sipione B, Lorè N, Rossi G et al. "ΔF508-CFTR mutation in genetically diverse collaborative cross mice expands CF disease-relevant phe-

notypes" North American Cystic Fibrosis Conference, November 2-5, 2021, Fully Virtual

- FFC Project#4/2019 **"Restoring defective proteostasis in Cystic Fibrosis: novel strategies for F508del-CFTR repair"** Giorgio Cozza (Università di Padova, Dip. di Medicina Molecolare, Sez. Chimica Biologica)

#### Publications

- Zanin S, Molinari S, Cozza G et al. "Intracellular protein kinase CK2 inhibition by ferulic acid-based trimodal nanodevice" *Int J Biol Macromol*, 2020 Sep 30;165(Pt A):701-712

- FFC Project#6/2019 **"Identification of deubiquitinases and ubiquitin ligases that affect mutant CFTR rescue"** Luis JV Galiotta (Istituto Teleton di Genetica e Medicina – TIGEM, Pozzuoli, Napoli)

#### Publications

- Scudieri P, Musante I, Venturini A et al. "Ionocytes and CFTR Chloride Channel Expression in Normal and Cystic Fibrosis Nasal and Bronchial Epithelial Cells" *Cells* 2020 Sep 13;9(9):2090

- Venturini A, Borrelli A, Musante I et al. "Comprehensive Analysis of Combinatorial Pharmacological Treatments to Correct Nonsense Mutations in the CFTR Gene" *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 11972.

- FFC Project#8/2019 **"Antimicrobial peptides from amphibian skin for treatment of lung pathology in cystic fibrosis: advanced in vitro and in vivo functional characterization"** Maria Luisa Mangoni (Università La Sapienza Roma, Dip. di Scienze Biochimiche, Lab. di Peptidi Bioattivi)

#### Publications

- Cappiello F, Carnicelli V, Casciaro B et al. "Antipseudomonal and Immunomodulatory Properties of Esc Peptides: Promising Features for Treatment of Chronic Infectious Diseases and Inflammation" *Int J Mol Sci.* 2021 Jan 8;22(2):557.

- Ferrera L, Cappiello F, Loffredo MR et al. "Esc peptides as novel potentiators of defective cystic fibrosis transmembrane conductance regulator: an unprecedented property of antimicrobial peptides" Submitted to *Cellular and Molecular Life Sciences* on August 25, 2021

#### Abstracts

- Cappiello F, Carnicelli V, Casciaro B et al. "Antipseudomonal and immunomodulatory properties of Esc(1-21) and its diastereomer" III Meeting of the Italian Peptide Society, Rome, 12 December, 2020

- Cappiello F, Casciaro B, Puglisi E et al. "Immunomodulatory activities of ESC peptides in lung infection" 61° SIB Meeting Virtual Edition, 23-24 September 2021

- FFC Project#9/2019 **"Therotyping orphan mutations in Italian cystic fibrosis patients: efficacy of CFTR modulators and RN5 inhibitors"** Nicoletta Pedemonte (IRCCS Istituto "G. Gaslini", UOC Genetica Medica, Genova), Andrea Cavalli (Istituto Italiano di Tecnologia, Biologia Computazionale e Chimica, Genova)

#### Publications

- Pesce E, Pedemonte N, Leoni A et al. "Synthesis and biological evaluation of thiazole derivatives on basic defects underlying cystic fibrosis" *Bioorg Med Chem Lett.* 2020 Nov 1;30(21):127473.

- Capurro V, Tomati V, Sondo E et al. "Partial Rescue of F508del-CFTR Stability and Trafficking Defects by Double Corrector Treatment" *Int J Mol Sci.* 2021 May 17;22(10):5262

- FFC Project#10/2019 **"Rescuing defective CFTR-F508del applying a drug repositioning strategy based on computational studies, surface plasmon resonance and cell-based assays"** Marco Rusnati (Dip. Medicina Molecolare e Traslazionale Sez. di Oncologia e Immunologia, Università di Brescia), Paola Fossa (Università di Genova, Dip. di Farmacia, Sez. di Chimica del Farmaco e del prodotto cosmetico), Alessandro Orro (Istituto di Tecnologie Biomediche, CNR, Milano)

#### Publications

- Rusnati M, D'Ursi P, Pedemonte N et al. "Recent Strategic Advances in CFTR Drug Discovery: An Overview" *Int J Mol Sci.* 2020 Mar 31;21(7):2407.

- Orro A, Uggeri M, Rusnati M et al. "In silico drug repositioning on F508del-CFTR: A proof-of-concept study on the AIFA library" *Eur J Med Chem.* 2021 Mar 5;213:113186.

#### Abstracts

- Uggeri M, Orro A, Urbinati C et al. "Rescuing defective CFTR applying a drug repositioning strategy XXVI" National Meeting in Medicinal Chemistry, Milan, Ca' Grandà, July 16-19, 2019

- Rusnati M, D'Ursi P, Pedemonte N et al. "Recent Strategic Advances in CFTR Drug Discovery: An Overview" *International Journal of Molecular Sciences* 2020 Apr; 21(7): 2407

- FFC Project#11/2019 **"Functional role of post-translational modifications in F508del-CFTR correction"** Mauro Salvi (Università di Padova, Dipartimento di Scienze Biomediche)

#### Publications

- Salvi M "Non-Histone Protein Methylation: Molecular Mechanisms and Physiopathological Relevance" *Curr Protein Pept Sci* 2020;21(7):640-641

- D'Amore C, Borgo G, Salvi M "A mutational approach to dissect the functional role of the putative CFTR "PTM-CODE" *J Cyst Fibros.* 2021 Sep;20(5):891-894.

- Borgo C, D'Amore C, Sarno S et al. "Protein kinase CK2: a potential therapeutic target for diverse human diseases" *Signal Transduct Target Ther.* 2021 May 17;6(1):183.

- FFC Project#12/2019 **"Proteomic approach for the identification of new leukocytes biomarkers directly related to a restored CFTR activity following ex vivo treatment with VX-770"** Monica Averna (Università di Genova, Dipartimento di Medicina Sperimentale), Emilio Marengo (Università del Piemonte Orientale, Dip. di Scienze e Innovazione Tecnologica, Torino)

#### Publications

- Pedrazzi M, Vercellone S, Barberis E et al. "Identification of Potential Leukocyte Biomarkers Related to Drug Recovery of CFTR: Clinical Applications in Cystic Fibrosis" *Int J Mol Sci.* 2021 Apr 10;22(8):3928

#### Abstracts

- Franchi A, Pedrazzi M, De Tullio R et al. "Identification of new leukocytes biomarkers directly related to a restored CFTR activity by shotgun proteomic analysis" 43rd European Cystic Fibrosis Conference

- FFC Project#1/2020 **"Peptide-nucleic acids as potential CFTR amplifier molecules for cystic fibrosis treatment"** Felice Amato (CEINGE - Biotecnologie Avanzate, Napoli, Lab. di ricerca in fibrosi cistica)

#### Publications

- Comegna M, Conte G, Falanga AP et al. "Assisting PNA transport through cystic fibrosis human airway epithelia with biodegradable hybrid lipid-polymer nanoparticles" *Sci Rep.* 2021 Mar 18;11(1):6393.

- FFC Project#9/2020 **"Therotyping of rare CFTR genotypes for treatment with CFTR modulators"** Paola Melotti (Centro Fibrosi Cistica, AOUI Verona)

#### Abstracts

- Sorio C, Kleinfelder K, Preato S et al. "Examples of therotyping using rectal organoids of rare CFTR variants: a clinical, regulatory and organizational challenge" XXVII Congresso Italiano della Società Italiana per lo studio della Fibrosi Cistica – XVII Congresso Nazionale della Società Italiana per lo Studio della Fibrosi Cistica – Napoli, 20-23 ottobre 2021

- FFC Project#15/2020 **"Targeting the STING/Transglutaminase 2-regulated Interferon response as a novel host-direct approach to fight bacterial infections in Cystic Fibrosis"** Mauro Piacentini (Università di Roma Tor Vergata, Dip. di Biologia), Valeria Raia (Università degli Studi di Napoli, Dip. di Scienze Mediche Traslazionali)

#### Publications

- Occhigrossi L, D'Eletto M, Barlev N et al. "The Multifaceted Role of HSF1 in Pathophysiology: Focus on Its Interplay with TG2" *Int J Mol Sci.* 2021 Jun 14;22(12):6366

- Occhigrossi L, Rossin R, D'Eletto M et al. "Transglutaminase 2 Regulates Innate Immunity by Modulating the STING/TBK1/IRF3 Axis" *J Immunol.* 2021 May 15;206(10):2420-2429.

- Rossin F, Costa R, Bordi M et al. "Transglutaminase Type 2 regulates the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway in vertebrates" *Cell Death Dis.* 2021 Mar 5;12(3):249.

- FFC Project#TFCC **"Task Force for Cystic Fibrosis"**, Luis JV Galiotta (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
  - Galiotta L. "Scoperta di nuovi farmaci: il panorama della ricerca accademica" 39th European Cystic Fibrosis Conference, 8 – 11 June 2016 | Basel, Switzerland"

- FFC Project#TFCF 2 "**Task Force for Cystic Fibrosis 2**", Luis JV Galiotta (Lab. Genetica Molecolare, Ist. "G. Gaslini", Genova), Tiziano Bandiera (Istituto italiano di tecnologia, Genova)

#### Abstracts

- Bandiera T, Pedemonte N, Caci E et al. "Task Force for Cystic Fibrosis: identification of novel F508del-CFTR modulators" 13th Basic Science Conference, 30 March-2 April 2016, Pisa
- FFC Project#TFCF 3 "**Task Force for Cystic Fibrosis 3**", Luis JV Galiotta (Lab. Genetica Molecolare, Ist. "G. Gaslini", Genova), Tiziano Bandiera (Istituto italiano di tecnologia, Genova)

#### Abstracts

- Bertozzi F, Bandiera T, Di Fruscia P et al "Task force for cystic fibrosis (TFCF): discovery and characterization of potent F508del-CFTR modulators" 14th ECFS Basic Science Conference, 29 March – 1 April 2017, Albufeira, Portugal
- Bandiera T, Sorana F, Berti F et al "Discovery and characterization of potent F508DEL-CFTR correctors" North American Cystic Fibrosis Congress (NACFC), November 2-4, 2017, Indianapolis
- Bandiera T, Sorana F, Berti F et al. "New correctors rescue F508del-CFTR activity at a low nanomolar concentrations" ECFC Basic Science Conference 2018, 21 -24 March 2018, Loutraki Korinthias, Greece
- Liessi N, Pesce E, Braccia C et al. "Distinctive lipid signatures of bronchial epithelial cells associated with cystic fibrosis drugs, including Trikafta" Journal of Clinical Investigation 2020 Aug 20; 5(16): e138722.
- Brindani N, Gianotti A, Giovani S, et al. "Identification, Structure-Activity Relationship, and Biological Characterization of 2,3,4,5-Tetrahydro-1 H-pyrido[4,3- b]indoles as a Novel Class of CFTR Potentiators" Journal of medicinal chemistry, 2020 Oct 8;63(19):11169-11194
- Pedemonte N, Bertozzi F, Caci E et al. "Discovery of a picomolar potency pharmacological corrector of the mutant CFTR chloride channel" Science Advances, 21 Feb 2020: Vol. 6, no. 8, eaay9669

### 3. MICROBIOLOGY

#### Microbiologia

- 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 (Polypor Ltd, Switzerland)

#### Publications

- Cigana C, Bernardini F, Facchini M et al. "Efficacy of the novel antibiotic POL7001 in preclinical models of *Pseudomonas aeruginosa* Pneumonia" Antimicrob Agents Chemother, 2016 Jul 22;60(8):4991-5000

#### Abstracts

- Bragonzi A. et al., "Evaluation Of Efficacy of POL7001 Against *Pseudomonas aeruginosa* in Lung Infection Models" 35<sup>th</sup> 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 Policl., Dip. Pediatria, Milano), Daria Giacomini (Dip. Chimica, Università di Bologna)

#### Publications

- Cervellati R. et al. "Monocyclic  $\beta$ -lactams as antibacterial agents: facing antioxidant activity of N-methylthio-azetidionones" 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-thiomethylazetidionones" Chem MedChem. 2011 Oct 4;6(10):1919-27. doi: 10.1002/cmdc.201100282. Epub 2011 Aug 10.

- Braschi I, Biasoli 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-methylazetidionones" European Journal of Medicinal Chemistry 2013; 60: 340-349

#### Abstracts

- Soldati R. et al. "Synthesis of new bioactive betalactam derivatives (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.
- Presta L, Inzucchi I, Bosi E et al. "Draft Genome Sequence of *Flavobacterium* sp. Strain TAB 87, Able To Inhibit the Growth of Cystic Fibrosis Bacterial Pathogens Belonging to the *Burkholderia cepacia* Complex" Genome Announc. 2016, May 19;4(3)

#### Abstracts

- Papaleo MC. et al. "Volatile organic compounds (VOCs) from antarctic communities bacteria inhibiting cystic fibrosis pathogens" 12<sup>th</sup> FIVS 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/W1282X CONVEGNO 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/s00018-013-1291-7. 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)NH<sub>2</sub> 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
- Casciaro B, Loffredo MR, Luca V et al. “Esculentin-1a Derived Antipseudomonal Peptides: Limited Induction of Resistance and Synergy with Aztreonam” Prot. Lett. 2018 Oct 31. doi: 10.2174/0929866525666181101104649

#### 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”, Policl. Umberto I, Centro fibrosi cistica, Roma), Maria Trancasini (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

- Iebba 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 of an 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)

#### Publications

- Leal T, Bergamini G, Huaux F, Panin N et al “Azithromycin Attenuates *Pseudomonas*-Induced Lung Inflammation by Targeting Bacterial Proteins Secreted in the Cultured Medium” Frontiers in Immunology, 2016 Nov 15;7:499

#### Abstracts

- Bergamini, G., Stellari, F., Sandri A. et al. “*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 Bevivino (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 “Bambin Gesù”, Roma), Graziana Manno (Dip. di Scienze Pediatriche, Università di Genova)

#### Publications

- Bevivino A. et al. “The evolving polymicrobial composition in the air-

ways 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

#### Abstracts

- Bevivino 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” 36<sup>th</sup> European Cystic Fibrosis Conference (ECFC), Lisboa, 12-15 June, 2013
- Bevivino 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, Chianciani M, Taccetti G, Lucidi V, De Alessandri A, Mengoni A, Bevivino A. “Airway microbiota in cystic fibrosis patients with a severe decline in lung function” 24<sup>th</sup> ECCMID 10-13 May, Barcelona, Spain

- FFC Project#9/2012 “**Development, production and characterization of antibacterial peptides (CAMPs) active on the sessile form of the opportunistic human pathogens *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cenocepacia***” Eliodoro Pizzo (Dip. Biologia Strutturale e Funzionale, Lab. Struttura e Funzione delle Proteine, Università Federico II, Napoli), Mario Varcamonti (Dip. Biologia Strutturale e Funzionale, Lab. Microbiologia, Università Federico II, Napoli)

#### Publications

- Pizzo E, Cafaro V, Di Donato A et al. “Cryptic Antimicrobial Peptides: Identification Methods and Current Knowledge of their Immunomodulatory Properties” Current Pharmaceuticals Design 2018;24(10):1054-1066.

- FFC Project#10/2012 “**A very promising drug against *Burkholderia cenocepacia***” Giovanna Riccardi (Dipartimento di Biologia e Biotecnologie, Università di Pavia)

#### Publications

- Udine C. et al. “Phenotypic and genotypic characterisation of *Burkholderia cenocepacia* 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
- 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 benzothiadiazole derivative effective against *Burkholderia cenocepacia*” Front Microbiol. 2015 Aug 5;6:815.

- FFC Project#12/2012 “**Naturally occurring antimicrobials to counteract lung infections in cystic fibrosis patients: Cecropin A-Melittin (CA-M) hybrid peptides and polymyxins**” 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.
- Pompilio A, Ciavardelli D, Crocetta V et al. “*Stenotrophomonas maltophilia* virulence and specific variations in trace elements during acute lung infection: implications in cystic fibrosis” PLoS ONE, 2014 Feb 28;9(2):e88769

#### 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 Univer-

- sity of Technology, Gliwice, Poland <http://www.chemiabiorganiczna.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
    - Mastropasqua MC, D'Orazio M, Cerasi M et al, "Growth of *Pseudomonas aeruginosa* in zinc poor environments is promoted by a nicotianamine-related metallophore" *Molecular Microbiology* 2017 Nov;106(4):543-561. doi: 10.1111/mmi.13834

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 Bio-scienze-Università degli Studi di Milano)
 

Abstracts

    - Bergamini G. et al. "Azitromycin effect on lung inflammation induced by *Pseudomonas aeruginosa* released proteases as shown by in vivo imaging in IL-8 transiently transgenized mice" 28<sup>th</sup> Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Atlanta, October 9-11, 2014  - FFC Project#10/2013 **"Anti-virulence therapy against *Pseudomonas aeruginosa*: identification of antibiofilm 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, Rome)
 

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 azitromycin 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
    - Lo Sciuoto A, Martorana AM, Fernandez-Pinar R et al. "*Pseudomonas aeruginosa* LptE is crucial for LptD assembly, cell envelope integrity, antibiotic resistance and virulence" *Virulence* 2018;9(1):1718-1733
    - Imperi F, Fiscarelli EV, Visaggio D et al. "Activity and Impact on Resistance Development of Two Antivirulence Fluoropyrimidine Drugs in *Pseudomonas aeruginosa*" *Front. Cell. Infect. Microbiol*. 2019 Mar 11;9:49.

Abstracts

    - Costabile G. et al. "Repositioning niclosamide for anti-virulence therapy against *P. aeruginosa* lung infections: development of nanosuspensions 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 16<sup>th</sup> - 17<sup>th</sup> 2015, Rome, Italy
  - Costabile G., d'Angelo I., Miro A. et al. "Inhalable hyaluronan/mannitol microparticles for local delivery of flucytosine against *Pseudomonas aeruginosa* lung infections" 9<sup>th</sup> A.It.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: 2<sup>nd</sup> 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" 5<sup>th</sup> 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- $\alpha$  Binding to Its Receptors" *Molecules* 2014; 19:7255-7268
    - Falciani C. et al. "Site-specific pegylation of an antimicrobial peptide increases resistance to *Pseudomonas aeruginosa* elastase" *AminoAcids* 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?" 14<sup>th</sup> 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 16<sup>th</sup> - 17<sup>th</sup> 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 Anamaria (Technical Unit for Sustainable Development and Innovation of Agro-Industrial System, ENEA Casaccia Research Center, Lab. Microbiology, 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 16-17<sup>th</sup> 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 Congress 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. “Esculentin-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 esculentin-1a (1-21)NH<sub>2</sub> and its diastereomer to lipopolysaccharide: Correlation with biological functions” Biochim Biophys Acta. 2016 Apr;1858(4):800-12
- Chen C, Mangoni ML, Di YP “In vivo therapeutic efficacy of frog skin-derived peptides against *Pseudomonas aeruginosa*-induced pulmonary infection” Sci. Rep. 2017 Aug 17;7(1):8548. doi: 10.1038/s41598-017-08361-8.
- Loffredo MA, Ghoshb A, Harmouchec N et al “Membrane perturbing activities and structural properties of the frog-skin derived peptide Esculentin-1a(1-21)NH<sub>2</sub> and its Diastereomer Esc(1-21)-1c: Correlation with their antipseudomonal and cytotoxic activity” BBA – Biomembranes 1859 (2017) 2327–2339
- Cappiello F, Casciaro B, Mangoni ML “A Novel In Vitro Wound Healing Assay to Evaluate Cell Migration” Journal of Visualized Experiments 2018 Mar 17;(133)

#### 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
- Mangoni ML, McDermott AM, Di YP “Derivatives of the frog-skin peptide esculentin-1a with promising activity against infections induced by *Pseudomonas aeruginosa*” Boulder Peptide Symposium, 25-28 September, 2017, Boulder Colorado (US)
- Mangoni ML, de la Fuente J, McDermott AM et al. “How to struggle *Pseudomonas aeruginosa*-associated infections? A lesson from the amphibian skin-derived peptide Esculentin(1-21) and its diastereomer” Cost Action CM1407, 5th MC/WG, Malta, 1-2 March, 2018
- Mangoni ML, Chen C, Cappiello F et al. “In vivo efficacy of esculentin-1a-derived peptides against *Pseudomonas aeruginosa*-induced pneumonia” 16th Naples Workshop on Bioactive Peptides (June 7-9)
- 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
- Oliva R, Chino M, Pane K et al “Exploring the role of unnatural amino acids in antimicrobial peptides” SCI REP 2018 Jun 11;8(1):8888.
- Oliva R, Chino M, Lombardi A et al. “Similarities and differences for membranotropic action of three unnatural antimicrobial peptides” Journal of Peptide Science 2020 Aug;26(8):e3270

#### Abstracts

- Avitabile A. e 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#14/2014 **“Development of BMAP18 as a peptide drug in the lung bacterial infections: a study to improve its effectiveness in the CF pulmonary environment”** Marco Scocchi (Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Trieste)

#### Publications

- Mardirossian M, Pompilio A, Degasperi M et al. “D-BMAP18 Antimicrobial Peptide Is Active In vitro, Resists to Pulmonary Proteases but Loses Its Activity in a Murine Model of *Pseudomonas aeruginosa* Lung Infection” Frontiers in Chemistry 2017 Jun 19;5:40
- Mardirossian M, Pompilio A, Crocetta V et al. “In vitro and in vivo evaluation of BMAP-derived peptides for the treatment of cystic fibrosis-related pulmonary infections” Amino Acids, 2016 Sep;48(9):2253-60
- 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 Traslationale NTMS - Lab. Patologia Generale, Università di Pisa)

#### Publications

- Corti A, Griese M, Hector A et al. “Increasing sputum levels of gamma-glutamyltransferase may identify cystic fibrosis patients who do not benefit from inhaled glutathione”, Journal of Cystic Fibrosis, 2017, May;16(3):342-345
- Corti A, Pompella A, Bergamini G et al. “Glutathione inhalation treatments in cystic fibrosis: the interference of airway  $\gamma$ -Glutamyltransferase” American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 2014 Jan 15;189(2):233-4
- Corti A, Belcastro E, Dominici S et al. “The dark side of gamma-glutamyltransferase (GGT): Pathogenic effects of an ‘antioxidant’ enzyme” Free Radical Biology and Medicine 2020 Sep 9;160:807-819
- Piaggi S, Marchi E, Carnicelli V et al. “Airways glutathione S-transferase omega-1 and its A140D polymorphism are associated with severity of inflammation and respiratory dysfunction in cystic fibrosis” J Cyst Fibros. 2021 Feb 11;S1569-1993(21)00033-3.

#### 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
- Corti A, Melotti P, Sorio C et al. “Effects of increasing levels of gamma-glutamyltransferase in cystic fibrosis airways on glutathione inhalation therapies” 14th ECFS Basic Science Conference, 29 March – 1 April 2017, Albufeira, Portugal

- FFC Project# 19/2014 **“Mitochondrial Ca<sup>2+</sup>-dependent inflammatory activation exacerbates the *P. aeruginosa*-driven inflammatory response”** Paolo Pinton (Dip. di Morfologia, Chirurgia e Medicina Sperimentale, Lab. Traduzione del Segnale, Università di Ferrara)

#### Publications

- Giorgi C, Missiroli S, Patergnani S et al. “Mitochondria-Associated Membranes: Composition, Molecular Mechanisms, and Physiopathological Implications” Antioxidant & redox signaling 22 (12), 995-1019
- 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 Bioactive Peptides. June 23-25, 2016, Naples, Italy
- Bosso A. et al. “Cryptic anti-microbial peptides in human secretory proteins: the case of H11 $\beta$  (235-261).” 15th Naples Workshop on Bioactive Peptides. June 23-25, 2016, Naples Italy
- Pane K. et al. “Novel antimicrobial weapons hidden in human secretoma” Altant Conference May 18-20, 2016 Utrecht, Netherlands
- Verrillo MV. et al. “Efficient production and labeling of recombinant pep-

- tides 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)
    - Publications
      - Codagnone M, Cianci E, Lamolinara A et al. "Resolvin D1 enhances the resolution of lung inflammation caused by long-term *Pseudomonas aeruginosa* infection" *Mucosal Immunology* 2017 Apr 19. doi: 10.1038/mi.2017.36.
    - Abstracts
      - Codagnone M. et al. "Resolvin D1 enhances resolution of inflammation caused by chronic *Pseudomonas aeruginosa* lung infection" 13<sup>th</sup> ECFS Basic Science Conference, 30 March – 2 April 2016, Pisa, Italy
      - Recchiuti A, Isopi E, Mattoscio D et al. "Harnessing resolution mediators as innovative therapeutics for cystic fibrosis" 2<sup>nd</sup> World Congress on Pharmacology & Toxicology, Roma, 16-18 agosto 2018
  - FFC Project#23/2014 "**Mechanisms and clinical implications of endothelial dysfunction in cystic fibrosis**" Mario Romano (Dip. di Scienze Sperimentali e Cliniche, Lab. di Medicina Molecolare, Università G. D'Annunzio, Chieti-Pescara)
    - Publications
      - Plebani R, Tripaldi R, Lanuti P et al. "Establishment and long-term culture of human cystic fibrosis endothelial cells" *Laboratory Investigation* 2017 Jul 31. doi: 10.1038/labinvest.2017.74
      - Totani L, Plebani R, Piccoli A et al. "Mechanisms of endothelial cell dysfunction in cystic fibrosis" *Biochimica et Biophysica Acta* 2017 Aug 25. pii: S0925-4439(17)30293-4
    - Abstracts
      - Aureli M. et al. "Development of new inhibitors of the non-lysosomal  $\beta$ -glucosylceramidase GBA2 as possible anti-inflammatory agents for CF lung disease" 12<sup>th</sup> ECFS Basic Science Conference – 25-28 Marzo 2015, Algarve, Portugal
      - Schiumarini D. et al. "Involvement of GBA2 in the inflammatory response to *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis" 29<sup>th</sup> 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" 39<sup>th</sup> ECFS Conference, Basilea, 8-11 June 2016
      - Schiumarini D. et al. "Involvement of glycosphingolipid -hydrolase in the inflammatory response to *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis", Riunione dei Giovani Biochimici dell'Area Milanese, Gargnano, 2016
      - Schiumarini D. et al. "Involvement of glycosphingolipid -hydrolase in the inflammatory response to *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis", 13<sup>th</sup> ECFS Basic Science Conference, 30 March – 2 April 2016, Pisa, Italy
      - Schiumarini D, Loberto N, Bassi R et al. "*Pseudomonas aeruginosa* infection induces alterations in plasma membrane lipid composition in cystic fibrosis airway cells: molecular mechanisms and therapeutic options for CF lung pathology" 14<sup>th</sup> ECFS Basic Science Conference, 29 March – 1 April 2017, Albufeira, Portugal
      - Schiumarini D, Loberto N, Bassi R et al. "*Pseudomonas aeruginosa* infection induces alterations in plasma membrane lipid composition in cystic fibrosis airway cells: molecular mechanisms and therapeutic options for CF lung pathology" 14<sup>th</sup> ECFS Basic Science Conference, 29 March – 01 April 2017, Albufeira, Portugal
  - 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)
    - Publications
      - Sandri A, Ortombina A, Boschi F et al. "Inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* secreted virulence factors reduces lung inflammation in CF mice" *Virulence* 2018;9(1):1008-1018.
    - Abstracts
      - Sandri A et al. "Monitoraggio in vivo dell'infiammazione polmonare in topi CFTR-/-" 39<sup>th</sup> European Cystic Fibrosis Conference, 8-11 June 2016, Basel, Switzerland
  - Sandri A, Stellari F, Boschi F "Matrix metalloprotease inhibitors as anti-inflammatory therapy in *Pseudomonas aeruginosa* lung infection" 14<sup>th</sup> ECFS Basic Science Conference, 29 March – 1 April 2017, Albufeira, Portugal
  - 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 30<sup>th</sup> Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, October 27–29, 2016
      - Lorè N, Sipione B, Mott R et al. "Novel disease models to capture pathological complexity of *Pseudomonas aeruginosa* respiratory infection" 40<sup>th</sup> European Cystic Fibrosis Conference Seville, Spain, 7–10 June 2017
      - Lorè I, Iraqi F, Bragonzi A "Novel genetically-diverse mouse models to unravel the complexity of the lung infections" 14<sup>th</sup> ECFS Basic Science Conference, 29 March – 01 April 2017, Albufeira, Portugal
      - Sipione B, Brombin C, Mott R et al. "Tracking the complexity of the inflammatory response to *P. aeruginosa* respiratory infection" North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC), November 2-4, 2017, Indianapolis
    - 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 Berlutti (Dip. di Salute Pubblica e Malattie Infettive - Università La Sapienza, Roma)
      - Publications
        - Valenti P, Frioni A, Rossi A et al. "Aerosolized bovine lactoferrin reduces neutrophils and pro-inflammatory cytokines in mouse models of *Pseudomonas aeruginosa* lung infections" *Biochemistry and Cell Biology* 2017 Feb;95(1):41-47. doi: 10.1139/bcb-2016-0050. Epub 2016 Jul 8
        - Cutone A, Lepanto MS, Rosa L et al. "Aerosolized bovine lactoferrin counteracts infections, inflammation and iron dysbalance in a cystic fibrosis mouse models of *Pseudomonas aeruginosa* chronic lung infection" *International Journal of Molecular Science* 2019, 20(9), 2128
      - Abstracts
        - Gramaccioni 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" 13<sup>th</sup> International Conference on X-Ray Microscopy, 15-19 August 2016, Oxford, United Kingdom
      - FFC Project#13/2015 "**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**" Giovanni Bertoni (Dipartimento di Bioscienze – Università degli Studi di Milano)
        - Publications
          - Ferrara S, Falcone M, Macchi R et al. "The PAPI-1 pathogenicity island-encoded small RNA PesA influences *Pseudomonas aeruginosa* virulence and modulates pyocin S3 production" *PLoS ONE* 2017 Jun 30;12(6):e0180386
          - Silvia F, Carrubba R, Santoro S et al. "The Small RNA ErsA Impacts the Anaerobic Metabolism of *Pseudomonas aeruginosa* Through Post-Transcriptional Modulation of the Master Regulator Anr" *Front Microbiol.* 2021 Aug 20
          - Ferrara S, Rossi A, Ranucci S et al. "The Small RNA ErsA Plays a Role in the Regulatory Network of *Pseudomonas aeruginosa* Pathogenicity in Airway Infections" *mSphere* 2020 Oct 14;5(5):e00909-20
        - 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 Bevivino (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)
          - Publications
            - Bacci G, Mengoni A, Fiscarelli E et al. "A Different Microbiome Gene Repertoire in the Airways of Cystic Fibrosis Patients with Severe Lung

- Disease" International Journal of Molecular Sciences 2017 Jul 29;18(8).
- Bevivino A, Bacci G, Drevinek P et al. "Deciphering the Ecology of Cystic Fibrosis Bacterial Communities: Towards Systems-Level Integration" Trends Mol Med 2019 pii: S1471-4914(19)30185-6.

#### 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
- Bacci G, Armanini F, Taccetti G et al. "Longitudinal metagenomic analysis of the airways of patients with cystic fibrosis to uncover microbial signatures of lung disease progression" 40th European Cystic Fibrosis Conference, Seville, Spain, 7–10 June 2017
- Bevivino A, Bacci G, Armanini F et al. "Time-resolved metagenomic identifies key features in the co-evolution of bacterial communities and cystic fibrosis" XIII Congresso Nazionale SIFC, Napoli, 22-25 Novembre 2017
- Bacci G, Armanini F, Taccetti G et al. "Taxonomic and functional microbial signatures of cystic fibrosis lung disease" 41st European Cystic Fibrosis Conference, Belgrade, Serbia, 6-9 June 2018
- 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
- Israyilova A, Buroni S, Forneris F et al. "Biochemical Characterization of Glutamate Racemase-A New Candidate Drug Target against *Burkholderia cenocepacia* Infections" PLoS ONE 2016 Nov 29;11(11):e0167350. doi: 10.1371/
- Scoffone VC, Chiarelli LR, Trespido G et al. "*Burkholderia cenocepacia* Infections in Cystic Fibrosis Patients: Drug Resistance and Therapeutic Approaches" Frontiers in Microbiology 2017 Aug 22;8:1592. doi: 10.3389/fmicb.2017.01592. eCollection 2017
- Pellosi Silva D, d'Angelo I, Maiolino S et al. "In vitro/in vivo investigation on the potential of Pluronic® mixed micelles for pulmonary drug delivery" European journal of pharmaceuticals and Biopharmaceutics 2018 Jun 8. pii: S0939-6411(17)30904-9
- Hogan AM, Scoffone VC, Makarov V et al. "Competitive Fitness of Essential Gene Knockdowns Reveals a Broad-Spectrum Antibacterial Inhibitor of the Cell Division Protein FtsZ." Antimicrob Agents Chemother, 2018 Nov 26;62(12).
- Costabile G, Provenzano R, Azzalin A et al. "PEGylated mucus-penetrating nanocrystals for lung delivery of a new FtsZ inhibitor against *Burkholderia cenocepacia* infection" Nanomedicine 2020 Jan;23:102113

#### 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 com-

pounds affecting *Burkholderia cenocepacia* quorum sensing in vitro and in vivo" XX International Burkholderia cepacia Working Group, Columbus USA, 27-30 Aprile 2016

- Scoffone VC, Gislason AS, Hogan AM et al "Fighting *Burkholderia cenocepacia* through a new promising bactericidal molecule" 7th FEMS Microbiology Congress 2017, 9-13 July, 2017, Valencia
- Scoffone VC, Fumagalli M, Spiga L et al "Molecular investigations on the quorum sensing synthase Cepl of *Burkholderia cenocepacia*" XXXII SIMGBM Congress, September 17-20, 2017, Palermo
- FFC Project#21/2015 "**Exploiting the potential of gallium for the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* pulmonary infection**" Paolo Visca (Dipartimento di Scienze, Laboratorio di Microbiologia Clinica e Virologia - Università di Roma Tre, Roma), Francesco Peri (Dip. di Biotecnologie e Bioscienze - Università Bicocca, Milano), Raffaella Sorrentino (Dip. di Farmacia - Università Federico II, Napoli)

#### Publications

- Hijazi S, Visca P, Frangipani E "Gallium-Protoporphyrin IX Inhibits *Pseudomonas aeruginosa* Growth by Targeting Cytochromes" Front. Cell. Infect. Microbiol. 2017 Jan 26;7:12. doi: 10.3389/fcimb.2017.00012
- Pasqua M, Visaggio D, Lo Sciuto A et al "The ferric uptake regulator Fur is conditionally essential in *Pseudomonas aeruginosa*" J Bacteriol 2017 Aug 28
- Porcaro F, Bonchi C, Ugolini A et al "Understanding the biomimetic properties of gallium in *Pseudomonas aeruginosa*: an XAS and XPS study" Dalton Trans 2017 May 30;46(21):7082-7091
- Costabile G, d'Angelo I, d'Emmanuele R et al "Development of inhalable hyaluronan/mannitol composite dry powders for flucytosine repositioning in local therapy of lung infections" J Control Release, 2016 Sep 28;238:80-91

- FFC Project#14/2016 "**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**" Giovanni Bertoni (Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Milano)

#### Publications

- Falcone M, Ferrara S, Rossi E et al. "The Small RNA ErsA of *Pseudomonas aeruginosa* Contributes to Biofilm Development and Motility through Post-transcriptional Modulation of AmrZ" Frontiers in Microbiology 2018 Feb 15;9:238
- Carloni S, Macchi R, Sattin S et al. "The small RNA Real: a novel regulatory element embedded in the *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing networks" Environmental Microbiology 2017 Oct;19(10):4220-4237
- Ferrara S, Rossi A, Ranucci S et al. "The Small RNA ErsA Plays a Role in the Regulatory Network of *Pseudomonas aeruginosa* Pathogenicity in Airway Infections" mSphere, September/October 2020 Volume 5 Issue 5 e00909-20

- FFC Project#15/2016 "**Cystic fibrosis modifier genes related to *Pseudomonas aeruginosa* lung disease**" Alessandra Bragonzi (Unità Infezioni e Fibrosi cistica, Divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie Infettive, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano)

#### Publications

- Lorè NI, Cigana C, Sipione B et al. "The impact of host genetic background in the *Pseudomonas aeruginosa* respiratory infections" Mammalian Genome 2018 Jun 12.
- Bragonzi A, Horati H, Kerrigan L et al. "Inflammation and host-pathogen interaction: cause and consequence in cystic fibrosis lung disease" Journal of Cystic Fibrosis, 2018 Mar;17(2S):S40-S45.

#### Abstracts

- Lorè NI, Sipione B, Mott R et al. "Host genetic traits influence the severity of respiratory infections by *Pseudomonas aeruginosa*" 30<sup>th</sup> Annual North American Cystic Fibrosis Conference – Orlando, October 27-29, 2016
- Lorè NI, Sipione B, Mott R et al. "Novel disease models to capture pathological complexity of *Pseudomonas aeruginosa* respiratory infection" ECFS 2017 - The 40th European Cystic Fibrosis Conference– Siviglia, June 18-21, 2017
- Lorè NI, Iraqi F, Bragonzi A "Novel genetically-diverse mouse models to unravel the complexity of the lung infections" 2017 ECFS Basic Science Conference – Albufeira 29-1 April, 2017
- Lore NI, Sipione B, Mott R et al. "Novel disease models to capture pathological complexity of *Pseudomonas aeruginosa* respiratory infection" CFF Research Conference – Stevenson, June 18-21, 2017
- Lorè NI, Sipione B, He G et al. "Novel genetically-diverse mouse models to unravel genetic modifiers for *Pseudomonas aeruginosa* infection" North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC), November 2-4, 2017, Indianapolis

- FFC Project#16/2016 **"Phage therapy against *Pseudomonas aeruginosa* infections in cystic fibrosis patients"** Daniela Erica Ghisotti (Dipartimento di Bioscienze, Università di Milano)
  - Publications
    - Forti F, Roach DR, Cafora M et al. "Design of a broad-range bacteriophage cocktail that reduces *Pseudomonas aeruginosa* biofilms and treats acute infections in two animal models" *Antimicrob Agents Chemother* 2018 Mar 19. pii: AAC.02573-17
  - Abstracts
    - Cafora M, Forti F, Roach D et al. "Phage Therapy against *Pseudomonas aeruginosa* infections in Cystic Fibrosis patients" Convegno SIMGBM, 17-20 Settembre 2017, Palermo
- FFC Project#17/2016 **"Development of inhalable particles for optimal delivery of a potent antimicrobial molecule in *Pseudomonas aeruginosa* infected lungs"** Alessandro Pini (Dipartimento di Biotecnologia Medica, Università di Siena)
  - Publications
    - Puglia M, Landi C, Gagliardi A et al. "The proteome speciation of an immortalized cystic fibrosis cell line: New perspectives on the pathophysiology of the disease" *Journal of Proteomics* 2018 Jan 6;170:28-42
    - Brunetti J, Roscia G, Lampronti I et al. "Immunomodulatory and anti-inflammatory activity in vitro and in vivo of novel antimicrobial candidate" *Journal of Biological Chemistry*, 2016 Dec 2;291(49):25742-25748
    - Quercini L, Brunetti J, Riolo G et al. "An Antimicrobial Molecule Mitigates Signs of Sepsis in Vivo and Eradicates Infections From Lung Tissue" *FASEB Journal* 2020 Jan;34(1):192-207.
  - FFC Project#4/2017 **"Phenotyping new genetically-diverse mouse models mirroring the complexity of the cystic fibrosis pathology"** Nicola Ivan Lorè (Unità di Infezioni e Fibrosi cistica, Divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie Infettive, Ospedale San Raffaele, Milano)
    - Publications
      - Lorè NI, Sipione B, He G et al. "Collaborative cross mice yield modifiers for *Pseudomonas aeruginosa* infection in human lung disease" *Genome Research*, submitted
      - Sipione B, Lorè NI, Rossi G et al. "Phenotypic and genotypic characterization of a novel mouse model of F508del-CFTR in genetically diverse collaborative cross" 44th European Cystic Fibrosis Conference, 9–12 June 2021, *J Cystic Fibrosis*, Vol. 20 Supp. 1 (2021)
    - Abstracts
      - Sipione B, De Fino I, Viviani F et al. "New-genetically diverse mice to mirror complexity of cystic fibrosis respiratory infections" 12th European CF Young Investigator Meeting, Paris (France), 21-23 February, 2018
      - Sipione B, Lorè NI, Rossi G et al. "F508DEL-CFTR in genetically diverse collaborative cross mice yield cystic fibrosis phenotypes" North American Cystic Fibrosis Conference (NAFC), 21-23 October 2020, virtual conference
    - FFC Project#13/2017 **"Induction of viable but non-culturable forms, possibly responsible for treatment failure, in vitro biofilms of *Pseudomonas aeruginosa*. Role of antibiotics and antibiotic concentrations"** Francesca Biavasco (Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università Politecnica delle Marche)
      - Publications
        - Mangiaterra G, Amiri M, Di Cesare A et al. "Detection of viable but non-culturable *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis by qPCR: a validation study" *BMC Infection Disease*, 2018 Dec 27;18(1):701. doi: 10.1186/s12879-018-3612-9
        - Mangiaterra G, Cedraro N, Citterio B et al. "Tobramycin induces the Viable But Non-Culturable state in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm" *Journal of Cystic Fibrosis*, submitted
        - Mangiaterra G, Cedraro N, Vaissica S et al. "Role of Tobramycin in the Induction and Maintenance of Viable but Non-Culturable *Pseudomonas aeruginosa* in an In Vitro Biofilm Model" *Antibiotics*, 2020 Jul 10;9(7):399
      - Abstracts
        - Mangiaterra G, Cedraro N, Citterio B et al. "Induction of Viable but not-culturable *P. aeruginosa* in *in vitro* Biofilms. Role of sub-inhibitory antibiotic concentrations" *Biofilm 8*, Aarhus University, Aarhus C, Denmark, 27-29 May 2018
        - Mangiaterra G, Cedraro N, Laudadio E et al. "Anti-persistence activity of the natural alkaloid berberine against *Pseudomonas aeruginosa*" Meeting of the Italian Society of Chemistry-Marche region section, September 2019
        - Mangiaterra G, Cedraro N, Vaissica S et al. "Induction of Viable but Non-Culturable *Pseudomonas aeruginosa* by tobramycin in *in vitro* biofilms" 33rd Meeting of the Italian Society of General Microbiology and Microbial Biotechnology (SIMGBM), June 2019
    - Mangiaterra M, Manso E, Cirilli N et al. "Effectiveness of qPCR for reliable *Pseudomonas aeruginosa* cystic fibrosis lung infection diagnosis" International Congress of Microbiology and Infectious Disease (ICMID), Rome, November 2019, *Invited speaker*
    - FFC Project#14/2017 **"Preclinical study of a host-directed therapy based on Metformin and bioactive liposomes for the control of multidrug resistant *P. aeruginosa* infection"** Maurizio Fraziano (Dipartimento di Biologia, Università di Roma Tor Vergata)
      - Publications
        - Nisini R, Poerio N, Mariotti S et al. "The Multirole of Liposomes in Therapy and Prevention of Infectious Diseases" *Frontiers in Immunology* 2018 Feb 5;9:155
        - Poerio N, De Santis F, Rossi A et al. "Liposomes loaded with phosphatidylinositol 5- phosphate improve the antimicrobial response to *P. aeruginosa* in impaired macrophages from Cystic Fibrosis patients and limit airway inflammatory response" *Frontiers in Immunology*, 2020; 11:532225
      - FFC Project#15/2017 **"Frog skin-derived peptides for treatment of *Pseudomonas aeruginosa* lung infection and bronchial epithelial repair: advanced *in vitro* and *in vivo* characterization and development of polymeric nanoparticles for lung delivery"** Maria Luisa Mangoni (Dipartimento di Scienze Biochimiche, Università La Sapienza)
        - Publications
          - Casciaro B, d'Angelo I, Zhang X et al. "Poly(lactide-co-glycolide) Nanoparticles for Prolonged Therapeutic Efficacy of Esculentin-1a-Derived Antimicrobial Peptides against *Pseudomonas aeruginosa* Lung Infection: *in Vitro* and *in Vivo* Studies" *Biomacromolecules*, 2019 Apr 23. doi: 10.1021/acs.biomac.8b01829.
          - Casciaro B, Cappiello F, Loffredo MR et al. "The Potential of Frog Skin Peptides for Anti-Infective Therapies: the Case of Esculentin-1a(1-21)NH<sub>2</sub>" *Curr Med Chem* 2019, Jul 21. doi: 10.2174/0929867326666190722095408
          - Casciaro B, Lin Q, Afonin S et al. "Inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation and expression of virulence genes by selective epimerization in the peptide Esculentin-1a(1-21)NH<sub>2</sub>" *FEBS J* 2019 Oct;286(19):3874-3891
          - Cappiello F, Ranieri D, Carnicelli V et al. "Bronchial epithelium repair by Esculentin-1a-derived antimicrobial peptides: involvement of metalloprotease-9 and interleukin-8, and evaluation of peptides' immunogenicity" *SCI REP* 2019 Dec 12;9(1):18988
          - Casciaro B, Cappiello F, Verrusio W et al. "Antimicrobial Peptides and their Multiple Effects at Sub-Inhibitory Concentrations" *Current Topics in Medicinal Chemistry* 2020;20(14):1264-1273.
          - Casciaro B, Ghirga F, Quaglio D et al. "Inorganic Gold and Polymeric Poly(Lactide-co-glycolide) Nanoparticles as Novel Strategies to Ameliorate the Biological Properties of Antimicrobial Peptides" *Curr Protein Pept Sci* 2020;21(4):429-438
        - Abstracts
          - Cappiello F, Carnicelli V, Angioi A et al. "Esc(1-21) and its diastereomer: antipseudomonal frog-skin derived peptides with multiple immunomodulatory properties" 16th Naples Workshop on Bioactive Peptides (June 7-9)
          - Cappiello F, Carnicelli V, Angioi M et al. "The frog skin-derived peptides Esc(1-21) and its diastereomer: are they promoters of airway epithelium repair?" (Poster) XV FISV (Federazione Italiana Scienze della Vita) Congress, Sapienza University of Rome, Italy, September 18-21, 2018
          - Cappiello F, Carnicelli V, Angioi M et al. "Esc(1-21) and its diastereomer: antipseudomonal frog-skin derived peptides with multiple immunomodulatory properties" 16th Naples Workshop on Bioactive Peptides, June 7-9, 2018 Naples
          - Mangoni ML "How to control *Pseudomonas aeruginosa*-induced pneumonia? A lesson from derivatives of the amphibian skin peptide esculentin-1a" XV FISV (Federazione Italiana Scienze della Vita) Congress, Sapienza University of Rome, Italy, September 18-21, 2018
          - Mangoni ML, Cappiello F, Casciano B et al. "How to control *Pseudomonas aeruginosa*-induced pneumonia and keratitis? A lesson from the amphibian skin-derived peptide Esculentin(1-21) and its diastereomer" 35th European Peptide Symposium, 26-31 August 2018, Dublin City University, Ireland
          - Cappiello F, Casciaro B, Loffredo MR et al. "Improvement of antimicrobial and immunomodulatory properties by two L-to D-amino acid substitutions in the frog-skin peptide Esc(1-21)" COST Action CM1407 Meeting dedicated to Early Career Investigators, Brussels, Belgium, 18-19 February, 2019
          - Casciaro B, Loffredo MR, Lin Q et al. "Esculentin-1a derivatives as new antipseudomonal agents: limited induction of resistance and inhibition of biofilm formation" 9th International Meeting on Antimicrobial

- Peptides, Utrecht University, The Netherlands, August 28-30, 2019
- Loffredo MR, Casciaro B, Dutta D et al. "Encapsulation of esculentin-1a derived peptides into PLGA nanoparticole and their immobilization to contact lens for treatment and prevention of *Pseudomonas aeruginosa* infections" 9<sup>th</sup> International Meeting on Antimicrobial Peptides, Utrecht University, The Netherlands, August 28-30, 2019
  - Casciaro B, Loffredo MR, Mangoni ML "Anti-*pseudomonas* esculentin-1a derivatives versus conventional antibiotics: limited induction of resistance and inhibition of biofilm formation" 13th Cystic Fibrosis European Young Investigators' meeting (EYIM), February 27-28, March 1, Institut Pasteur, Paris
  - Mangoni ML, d'Angelo I, Ungaro F et al "Esculentin-1a derived peptides: Potential new drugs to target *Pseudomonas aeruginosa* pulmonary infection?" COST Action CM1407 Final Meeting, December 13-14, 2018, Tenerife, Canary Island, Spain
  - Loffredo MR, Casciaro B, Cappiello F et al. "Investigation of the molecular mechanism of antimicrobial Peptides in killing and inhibiting bacterial biofilms" 61° SIB Meeting Virtual Edition, 23-24 September 2021
- FFC Project#16/2017 "**Pre-clinical effectiveness of three human cryptic antibiofilm peptides (GVF27, HVA36 and IMY47): efficacy against lung pathogens and studies in animals**" Eliodoro Pizzo (Dipartimento di Biologia, Università di Napoli Federico II)
- Publications
- Pane K, Cafaro V, Avitabile A et al. "Identification of novel cryptic multifunctional antimicrobial peptides from the human stomach enabled by a computational-experimental platform" ACS Synthetic Biology 2018 Sep 21;7(9):2105-2115
  - Bosso A, Di Maro A, Cafaro V et al. "Enzymes as a Reservoir of Host Defence Peptides" Current Topics in Medicinal Chemistry 2020;20(14):1310-1323
  - Gaglione R, Pizzo E, Notomista E et al. "Host Defence Cryptides from Human Apolipoproteins: Applications in Medicinal Chemistry" Current Topics in Medicinal Chemistry 2020;20(14):1324-1337
  - Zanfardino A, Bosso A, Gallo G et al. "Human apolipoprotein E as a reservoir of cryptic bioactive peptides: The case of ApoE 133-167" Journal of Peptide Science 2018 Jul;24(7):e3095
  - Gaglione R, Cesaro A, Dell'Olmo E et al. "Cryptides Identified in Human Apolipoprotein B as New Weapons to Fight Antibiotic Resistance in Cystic Fibrosis Disease" Int J Mol Sci. 2020 Mar 17;21(6):2049
- FFC Project#17/2017 "**Identification of new efflux pumps inhibitors able to contrast nontuberculous mycobacterial infections in cystic fibrosis patients**" Stefano Sabatini (Dipartimento Scienze Farmaceutiche, Università degli Studi di Perugia)
- Publications
- Felicetti T, Machado D, Cannalire R et al. "Modifications on C6 and C7 positions of 3-phenylquinolone efflux pump inhibitors led to potent and safe anti-mycobacterial treatment adjuvants." ACS Infectious Diseases 2019 Mar 25. doi: 10.1021/acinfed.9b00041
- Abstracts
- Cannalire R, Felicetti T, Nizi MG et al. "Design, synthesis, and biological evaluation of functionalized 3-phenylquinolones to block efflux machinery in non-tuberculous mycobacteria" Italian-Spanish-Portuguese Joint Meeting in Medicinal Chemistry, MedChemSicily2018, Palermo, July 17-20, 2018
  - Felicetti T, Cannalire R, Machado D et al. "New potent and safer functionalized 3-phenylquinolones as efflux inhibitors of the *Mycobacterium avium*" Italian-Spanish-Portuguese Joint Meeting in Medicinal Chemistry, MedChemSicily2018, Palermo, July 17-20, 2018
  - Felicetti T, Machado D, Cannalire R et al. "C-6/C-7 functionalization of the 3-phenylquinolone scaffold to obtain potent nontuberculous efflux inhibitors" Merck & Elsevier Young Chemists Symposium, Rimini (Italy), November 19-21, 2018
- FFC Project#18/2017 "**Exploiting the potential of gallium for the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* pulmonary infection**" Paolo Visca (Dipartimento di Scienze, Lab. Microbiologia Clinica e Virologia, Università Roma Tre), Francesco Peri (Dip. di Biotecnologie e Bioscienze, Università Milano Bicocca), Raffella Sorrentino (Dip. di Farmacia, Università di Napoli Federico II)
- Publications
- Hijazi S, Visaggio D, Pirolo M et al "Antimicrobial activity of Gallium compounds on ESKAPE pathogens" Front. Cell. Infect. Microbiol. 2018 Sep 10;8:316
- Abstracts
- Hijazi S, Frangipani E, Visaggio D et al. "Hijacking bacterial iron metabolism using the transition metal gallium" XIV Congress of the Italian Federation of Life Sciences (FISV) - Sapienza, Rome, Italy September, 2018
  - Hijazi S, Pirolo M, Visaggio D et al. "A comparative study on the antimicrobial activity of gallium compounds against ESKAPE pathogens" 32th SIMGBM Congress, Microbiology 2017, Palermo (Italy), September 17-20, 2017
  - Pirolo M, Visaggio D, Frangipani E et al. "Bioluminescence-based biosensor for the detection of the *Pseudomonas aeruginosa* siderophore pyochelin" (Poster) XIV Congress of the Italian Federation of Life Sciences (FISV) - Sapienza, Rome, Italy September, 2018
  - Pirolo M, Visaggio D, Frangipani E et al. "Bioluminescence-based biosensor for the detection of the *Pseudomonas aeruginosa* siderophore pyochelin" Cortona Procarioni 2018. Cortona (Italy), May 2018
- FFC Project#19/2017 "**A longitudinal metagenomic analysis to uncover microbial signatures of CF lung disease: unravelling host-microbial community interactions in humans and animal models**" Annamaria Bevivino (ENEA, Divisione Biotecnologie e Agroindustria, Lab. Sostenibilità, Qualità e Sicurezza delle Produzioni Agroalimentari, Centro Ricerche Casaccia, Roma), Alessio Mengoni (Dip. di Biologia, Università degli Studi di Firenze), Nicola Segata (CIBIO, Laboratorio di Metagenomica computazionale, Università di Trento)
- Publications
- Bacci G, Taccetti G, Dolce D et al. "Untargeted Metagenomic Investigation of the Airway Microbiome of Cystic Fibrosis Patients with Moderate-Severe Lung Disease" Microorganism 2020 Jul 4;8(7):1003
  - Bacci G, Rossi A, Armanini F, et al. "Lung and Gut Microbiota Changes Associated to *Pseudomonas aeruginosa* Infection in Mouse Models of Cystic Fibrosis" Int. J. Mol. Sci. 2021, 22, 12169
- Abstracts
- Bacci G, Taccetti G, Dolce D et al. "Environmental microbial signatures revealed by metagenomic analysis of the airways of cystic fibrosis patients" XV FISV Congress, Sapienza University Rome, 18-21 September 2018
  - Bevivino A "The airway microbiome in cystic fibrosis: where are we now?" MicrobiotaMI, Milan, 5-7 November 2018
  - Bevivino A, Bacci G, Taccetti G et al. "The personalised temporal dynamics of microbiome in the airways of cystic fibrosis patients" 42nd European Cystic Fibrosis Conference, 5-8 June 2019, Liverpool, UK
  - Bevivino A, Bacci G, Rossi A, "Lung and gut microbiota signatures in cystic fibrosis mice challenged with *Pseudomonas aeruginosa*" 44th European Cystic Fibrosis Conference, 9-12 June 2021, J Cystic Fibrosis, Vol. 20, Supp. 1 (2021)
- FFC Project#20/2017 "**Establishment of animal model to investigate pathogenesis of infection by *Mycobacterium abscessus* complex members in cystic fibrosis patients**" Enrico Tortoli (Unità Batteri Patogeni Emergenti, Divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie Infettive, Istituto San Raffaele, Milano)
- Publications
- Riva C, Tortoli E, Cugnata F et al. "A New Model of Chronic *Mycobacterium abscessus* Lung Infection in Immunocompetent Mice" International Journal of Molecular Sciences 2020 Sep; 21(18): 6590
- Abstracts
- Riva C, Gona F, Cigana C et al. "Murine model of chronic *M. abscessus* respiratory infection" North American Cystic Fibrosis Conference (NACF), November 2-4, 2017, Indianapolis, IN, USA
  - Riva C, Gona F, Cigana C et al. "Characterization of murine model of chronic *M. abscessus* respiratory infection" ERS International Congress, September 16-18, Paris, France
- FFC Project#22/2017 "**In vivo validation of phage therapy against *Pseudomonas aeruginosa* infections using the new Zebrafish (*Danio rerio*) animal model**" Anna Silvia Pistocchi (Dipartimento di Biotecnologie Mediche e Medicina Traslazionale, Università degli Studi di Milano)
- Publications
- Cafora M, Deflorian G, Forti F et al. "Phage therapy against *Pseudomonas aeruginosa* infections in a cystic fibrosis zebrafish model" SCI REP, 2019 Feb 6;9(1):1527
  - Brix A, Cafora M, Aureli M et al. "Animal Models to Translate Phage Therapy to Human Medicine" International Journal of Molecular Sciences 2020 May 25;21(10):3715
  - Cafora M, Foti F, Briani F et al. "Phage Therapy Application to Counteract *Pseudomonas aeruginosa* Infection in Cystic Fibrosis Zebrafish Embryos" Journal of Visualized Experiments 2020 May 12;(159)
- Abstracts
- Cafora M, Forti F, Deflorian G "In vivo validation of phage therapy against *Pseudomonas aeruginosa* infections using zebrafish as a new model for cystic fibrosis" European Human Genetics Conference, Milan, June 16-19, 2018

- Cafora M, Forti F, Deflorian G et al. "Phage therapy against *Pseudomonas aeruginosa* infections in a cystic fibrosis zebrafish model" 2nd Italian Zebrafish Meeting, Pisa, Italy, 30 January - 1 February, 2019
- Cafora M, Forti F, Deflorian G et al. "Phage therapy against *Pseudomonas aeruginosa* infections in a cystic fibrosis zebrafish model" III Workshop Biometra, Milano, 24 settembre 2018
- Cafora M, Forti F, Deflorian G et al. "In vivo validation of phage therapy against *Pseudomonas aeruginosa* infections using zebrafish as a new model for cystic fibrosis" ZDM11, Leiden, The Netherlands, July 10-13, 2018
- FFC Project#14/2018 **"Ex vivo study on Type I and III interferon response and virus-bacteria interactions in cystic fibrosis patients: a new approach to try to develop alternative therapeutic strategy"** Guido Antonelli (Dip. Medicina Molecolare, Lab. Virologia, La Sapienza Roma; Unità di Microbiologia e Virologia, Policlinico Umberto I)
  - Publications
    - Prezioso C, Di Lella FM, Rodio DM et al. "Merkel Cell Polyomavirus DNA Detection in Respiratory Samples: Study of a Cohort of Patients Affected by Cystic Fibrosis" *Viruses*, 2019 Jun 21;11(6). Pii: E571. doi: 10.3390/v11060571
    - Antonelli G "No detection of SARS-CoV-2 in cystic fibrosis patients at the Regional (Lazio) Reference Center for CF in Italy" *JOURNAL OF CYSTIC FIBROSIS* 2020 Sep; 19(5): 837-838
    - Prezioso C, Di Lella FM, Rodio DM et al. "Merkel Cell Polyomavirus DNA Detection in Respiratory Samples: Study of a Cohort of Patients affected by Cystic Fibrosis" *Viruses* 2019 Jun 21;11(6):571
    - Scagnolari C, Bitossi C, Frasca F et al. "Differential toll like receptor expression in cystic fibrosis patients' airways during rhinovirus infection" *Journal of Infection* 2020 Nov;81(5):726-735
    - Scagnolari C, Bitossi C, Frasca F et al. "No detection of SARS-CoV-2 in cystic fibrosis patients at the Regional (Lazio) Reference Center for CF in Italy" *JOURNAL OF CYSTIC FIBROSIS* 2020 Sep;19(5):837-838
    - Bitossi C, Frasca F, Viscido A et al. "SARS-CoV-2 Entry Genes Expression in Relation with Interferon Response in Cystic Fibrosis Patients" *Microorganisms*, 2021 Jan 3;9(1):93.
  - Abstracts
    - Bitossi C, Viscido A, Nonne C et al. "Age and genotype related Rhinovirus infection rate in Cystic Fibrosis patients attending a Regional Reference Center" *SIM 2019* (Rome September 2019)
    - Bitossi C, Scordio M, Viscido A et al. "Differential respiratory tract expression of SARS CoV 2 ACE 2 receptor and of serine proteases and relationship with IFN response in cystic fibrosis patients" 47° Congresso nazionale SIM, 19-21 settembre 2019, Roma
    - Bitossi C, Viscido A, Bibbolino G et al. "Aspergillus spp. isolation from patients attending the Regional Reference Center for Cystic Fibrosis University Hospital "Policlinico Umberto I", Rome" XLIX CONGRESSO NAZIONALE AMCLI - Rimini, 7-10 novembre 2020
    - Bitossi C, Viscido A, Nonne C et al. "Age- and genotype-related Rhinovirus infection rate in Cystic Fibrosis patients attending a Regional Reference Center" 47° Congresso Nazionale SIM, 18-21 settembre 2019, Roma
- FFC Project#15/2018 **"Off-target effects of CFTR-modulators in pre-clinical infection models"** Cristina Cigana (Unità Infezioni e Fibrosi Cistica, divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie Infettive, Istituto San Raffaele Milano)
  - Abstracts
    - Mancini G, Caslini C, Alcalá-Franco B et al. "Impact of CFTR modulators on susceptibility to antibiotics and CFTR expression during *Pseudomonas aeruginosa* infection" North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC), October 31 - November 2, 2019 Nashville, TN (USA)
    - Cigana C, Alcalá-Franco B, Giannella R et al. "Linking CFTR modulators to *Pseudomonas aeruginosa* infection" *Journal of Cystic Fibrosis* 2021; Vol 20, Suppl 1: pages S1-S2, European Cystic Fibrosis Conference 2021, June 9-12, 2021
    - Cigana C, Giannella R, Alcalá-Franco B et al. "Impact of CFTR modulators on antibiotic susceptibility and virulence of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*" North-American Cystic Fibrosis Conference, November 2-5, 2021
  - FFC Project#17/2018 **"Drug repurposing for antivirulence therapy against *Pseudomonas aeruginosa*"** Livia Leoni (Università Roma Tre, Dip. Scienze, Lab. Microbiologie dei microrganismi)
    - Publications
      - D'Angelo F, Baldelli V, Halliday N et al. "Identification of FDA-Approved Drugs as Antivirulence Agents Targeting the pqs Quorum-Sensing System of *Pseudomonas aeruginosa*" *Antimicrob Agents Chemother* 2019 Oct 24;62(11).
      - Mellini M, Di Muzio E, D'Angelo F et al. "In silico Selection and Experimental Validation of FDA-Approved Drugs as Anti-quorum Sensing Agents" *Frontiers in Microbiology* 2019 Oct 10;10:2355
      - Baldelli V, D'Angelo F, Pavoncello V et al. "Identification of FDA-approved antivirulence drugs targeting the *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing effector protein PqsE" *Virulence* 2020 Dec;11(1):652-668
    - FFC Project#18/2018 **"In vitro and in vivo efficacy of an antimicrobial and antibiofilm designed peptidomimetic against CF lung pathogens"** Eugenio Notomista (Università degli Studi di Napoli Federico II, Dip. di Biologia), Eliodoro Pizzo (Università degli Studi di Napoli Federico II, Dip. di Biologia)
      - Publications
        - Siepi M, Donadio G, Dardano P et al. "Denatured lysozyme-coated carbon nanotubes: a versatile biohybrid material" *SCI REP* 2019 Nov 12;9(1):16643
      - Abstracts
        - Bosso A, Gaglione R, Ambrosio R et al. GVF27 and IMY47: two novel human peptides with marked anti-biofilm and immune-modulatory properties 9th International Meeting on Antimicrobial Peptides (IMAP 2019), Utrecht University, The Netherlands, August 28 - 30, 2019
        - Masino A, Cafaro V, Siepi M et al. "Luciferin and aminoluciferin as environment sensitive fluorescent labels for recombinant and synthetic peptides" 9th International Meeting on Antimicrobial Peptides (IMAP 2019), Utrecht University, The Netherlands, August 28 - 30, 2019
      - FFC Project#19/2018 **"New weapons against *Mycobacterium abscessus* and other nontuberculous mycobacteria"** Maria Rosalia Pasca (Università degli Studi di Pavia, Dip. di Biologia e Biotecnologia Lazzaro Spallanzani, Lab. Microbiologia molecolare)
        - Publications
          - Degiacomi G, Sammartino JC, Chiarelli LR et al. "Mycobacterium abscessus, an emerging and worrisome pathogen among cystic fibrosis patients" *Int J Mol Sci.* 2019 Nov 22;20(23):5868.
          - Chiarelli LR, Degiacomi G, Egorova A et al. "Nitric oxide-releasing compounds for the treatment of lung infections" *Drug Discov Today.* 2021 Feb;26(2):542-550.
        - Abstracts
          - Sammartino JC, Degiacomi G, Chiarelli LR et al. "Fighting Mycobacterium abscessus infection in cystic fibrosis patients" *Microbiology* 2019, XXXIII SIMGBM Congress, University of Florence, June 19-22, 2019
          - Degiacomi G, Sammartino JC, Urbani A et al. "New weapons are necessary to fight Mycobacterium abscessus" *ECFS Digital 2020 Conference*, 24-25 September 2020
          - Sammartino JC, Degiacomi G, Urbani A et al. "Fighting Mycobacterium abscessus infection in cystic fibrosis patients" *BIFI 2020*, 3-5 February, 2020, Zaragoza, Spain
          - Veschetti L, Sandri A, Passarelli Mantovani R et al. "Hypermutation as an evolutionary mechanism for *Achromobacter* spp. in cystic fibrosis lung infection" 43rd European Cystic Fibrosis Conference - 2020
        - FFC Project#20/2018 **"Biocompatible and inhalable antimicrobial-loaded nanoparticles for the counteraction of biofilm formation and antibiotic resistance: towards a potential new therapy for CF related infections"** Maurizio Sanguinetti (Divisione Microbiologia clinica, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma), Alberto Vitali (Istituto di Chimica del Riconoscimento Molecolare CNR-ICRM); Michele Iafisco (Istituto di Scienza e Tecnologia dei materiali ceramici ISTE - CNR, Faenza), Daniele Catalucci (Istituto di Genetica e Ricerca biomedica -IRGB, Milano)
          - Publications
            - Velino C, Carella F, Adamiano A et al. "Nanomedicine Approaches for the Pulmonary Treatment of Cystic Fibrosis" *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* 2019 Dec 17;7:406
          - Abstracts
            - Carella F, Velino C, Degli Esposti L et al. "Antimicrobial-loaded calcium phosphate nanoparticles for the counteraction of biofilm formation and antibiotic resistance: towards a potential new therapy for cystic fibrosis related infections" *World Biomaterials Congress WBC 2020 Virtual*, 11-15 december 2020
          - FFC Project#15/2019 **"Pharmacological inhibition of colistin resistance in gram-negative cystic fibrosis pathogens"** Fiorentina Ascenzioni (Dip. Biologia e Biotecnologie C. Darwin, Università La Sapienza, Roma)
            - Publications
              - Ghirga F, Stefanelli R, Cavinato L et al. "A novel colistin adjuvant identified by virtual screening for ArnT inhibitors" *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2020 Sep 1;75(9):2564-2572
              - Quaglio D, Mangoni ML, Stefanelli R et al. "ent-Beyerane Diterpenes as a Key Platform for the Development of ArnT-Mediated Colis-

tin Resistance Inhibitors" Journal of Organical Chemistry 2020 Aug 21;85(16):10891-10901

- FFC Project#16/2019 "**Fighting *Pseudomonas aeruginosa* persisters in cystic fibrosis pulmonary infections: improved detection and therapeutic strategies**" Francesca Biavasco (Dip. Scienze Ambientali e della Vita, Università Politecnica delle Marche, Ancona)

#### Publications

- Mangiaterra G, Cedraro N, Vaiasicca S et al. "Role of Tobramycin in the Induction and Maintenance of Viable but Non-Culturable *Pseudomonas aeruginosa* in an In Vitro Biofilm Model" Antibiotics (Basel). 2020 Jul 10;9(7):399.
- Mangiaterra G, Amiri M, Cedraro N et al. "*Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Lung Infection in Cystic Fibrosis: The Challenge of Persisters" IntechOpen, *Pseudomonas aeruginosa* - Biofilm Formation, Infections and Treatments, June 9th 2021
- Mangiaterra G, Carotti E, Vaiasicca S et al. "Contribution of Drugs Interfering with Protein and Cell Wall Synthesis to the Persistence of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms: An In Vitro Model" Int J Mol Sci. 2021 Feb 5;22(4):1628.

- FFC Project#21/2019 "**Preclinical study of a combined host- and pathogen directed approach based on bioactive liposomes and bacteriophages against *Mycobacterium abscessus* infection**" Maurizio Fraziano (Dip. Biologia, Università Tor Vergata, Roma)

#### Publications

- Nisini R, Oggioni MR, Rossolini GM "Editorial: Exploiting Novel Combined Host- and Pathogen- Directed Therapies for Combating Bacterial Multidrug Resistance" Frontiers in Immunology, Front Immunol. 2020 Nov 4;11:616486.
- Rinaldi F, Hanieh P, Sennato S et al. "Rifampicin-Liposomes for *Mycobacterium abscessus* Infection Treatment: Intracellular Uptake and Antibacterial Activity Evaluation" Pharmaceutics. 2021 Jul 13;13(7):1070.
- Grassi G, Vanini V, De Santis F et al. "PMN-MDSC Frequency Discriminates Active Versus Latent Tuberculosis and Could Play a Role in Counteracting the Immune-Mediated Lung Damage in Active Disease" Front Immunol. 2021 Apr 26;12:594376.

- FFC Project#11/2020 "**Disrupting *Pseudomonas aeruginosa* Quorum Sensing signalling in cystic fibrosis patients as a new frontier for antibacterial therapy**" Paola Brun (Università degli Studi di Padova, Dip. di Scienze Farmaceutiche e Farmacologiche)

#### Abstracts

- Bernabè G, Bellato M, Marzaro G et al. "Phenolic Derivatives Disrupt Quorum-sensing Coordinate Expression Of Virulence Factors In *Pseudomonas aeruginosa*" Word Microbe Forum, 20-24 June, 2021, online

- FFC Project#14/2020 "**New weapons against *Mycobacterium abscessus* and other nontuberculous mycobacteria**" Maria Rosalia Pasca (Università degli Studi di Pavia, Dip. di Biologia e Biotecnologia "Lazzaro Spallanzani", Lab. Microbiologia molecolare), Vladim Makarov (Federal Research Center, Moscow), Santiago Ramón-García (University of Zaragoza), Enrico Tortoli (Div. di Immunologia, Trapianti e Malattie Infettive - HSR, Milano)

#### Publications

- Degiacomi G, Chiarelli LR, Recchia R et al. "The Antimalarial Mefloquine Shows Activity against *Mycobacterium abscessus*, Inhibiting Mycolic Acid Metabolism" Int J Mol Sci. 2021 Aug; 22(16): 8533
- Egorova A, Jackson M, Gavriluk V et al. "Pipeline of anti-*Mycobacterium abscessus* small molecules: Repurposable drugs and promising novel chemical entities" Med Res Rev. 2021 Jul;41(4):2350-2387

## 4. INFLAMMATION Infiammazione

- FFC Project#18/2011 "**Inflammasome activation and IL-1 $\beta$  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 Molinaro (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 Re-

ceptor Family Member with Regulatory Functions in Inflammation and Immunity" Front Immunol. 2012 Oct 29;3:322. doi: 10.3389/fimmu.2012.00322. e Collection 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), , Carla Colombo (Centro Regionale FC, Fond. IRCCS Policlinico Mangiagalli e Regina Elena, 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, 10<sup>th</sup> Joint Annual Meeting, 11-14 September 2012, Geneva, Switzerland
- Cigana C. et al. "Host response to *Pseudomonas aeruginosa* adaptation during chronic infection" 35<sup>th</sup> 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
- Riva C, 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" 8<sup>th</sup> European CF Young Investigator Meeting Paris, France, 19-21 February 2014, 3<sup>rd</sup> 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, Cariani 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" 28<sup>th</sup> Annual North-American Conference, Atlanta, GA (USA), 9-11 October 2014
- Funicello F, Soldati R, Galletti P, Giacomini D. "Monocyclic beta-lactams and cystic fibrosis : facing antioxidant and antimicrobial activity of N-thiomethyl-azetidiones" 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

#### Publications

- Totani L, Amore C, Piccoli A et al. "Type-4 Phosphodiesterase (PDE4) Blockade Reduces NETosis in Cystic Fibrosis" Front Pharmacol. 2021 Sep 8;12:702677.

- 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. "Anti-inflammatory 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-κB: a novel combination therapy for cystic fibrosis?"** Fabiana Quaglia (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-κB: 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-κB delivered through inhalable particles prevents LPS-induced rat airway inflammation" *Am J Respir Cell Mol Biol*. 49(2013):288-95.
- d'Angelo I, Perfetto B, Costabile G et al. "Large Porous Particles for Sustained Release of a Decoy Oligonucleotide and Poly(ethyleneimine): Potential for Combined Therapy of Chronic *Pseudomonas aeruginosa* Lung Infections" *Biomacromolecules* 2016 May 9;17(5):1561-71. doi: 10.1021/acs.biomac.5b01646

### Abstracts

- De Stefano D. et al. "NF-κB decoy ODN release from respirable and biodegradable PEI/PLGA particles inhibits MUC2 expression in 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-κB" 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 ADRI TELF "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-κB" 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-κB 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#14/2012 **"Structure-activity relationships (SAR) of neoglycoconjugates derived from deoxyojirimycin as possible therapeutic agents for cystic fibrosis lung disease, by modulating the metabolism of sphingolipids"** Maria Cristina Dechecchi (Lab. Patologia Molecolare, Laboratorio Analisi AOUI, Verona), Frédéric Becq (Inst. Physiologie et Biologie Cellulaires, Université de Poitiers, France)

### Publications

- Lampronti I. et al. "Modulation of 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
- Bezzeri V, Avitabile C, Dechecchi 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 b-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.
- Montagner G, Bezzeri V, Cabrini G et al. "An antisense peptide nucleic acid against *Pseudomonas aeruginosa* inhibiting bacterial-induced inflammatory responses in the cystic fibrosis IB3-1 cellular model system" *International Journal of Biological Macromolecules* 2017 Jun;99:492-498.
- Milani R, Marcellini A, Montagner G et al. "Phloridzin derivatives inhibiting pro-inflammatory cytokine expression in human cystic fibrosis IB3-1 cells" *European Journal of Pharmaceutical Science*, 2015 Oct 12;78:225-33

### Abstracts

- Tebon M. et al. "Non-lisosomal 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." 10<sup>th</sup> ECFS Basic Science Conference
- Munari S. et al. "Structure-activity-relationships (sar) of neoglycoconjugates derived from Deoxyojirimycin as possible anti-inflammatory agents for CF lung disease" 11<sup>th</sup> ECFS Basic Science Conference, 26-29 March, Malta
- Loberto N. et al. "Involvement of the non-lysosomal β-glucosylceramidase 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" 7<sup>th</sup> 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 al. "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. "Genetic variants in IDO1 are associated with increased susceptibility to *A.fumigatus* colonization in patients with cystic fibrosis" The 15<sup>th</sup> International Congress of Immunology. SMS. 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 Riccio Torchiara (SA, Italy), April 13-16, 2014
- Romani L. "IDO/Kynurenine: A novel anti-inflammatory Th17 counteracting pathway in CF" 37<sup>th</sup> European Cystic Fibrosis Conference. Gothenburg (Sweden), June 11-14, 2014
- De Luca A. et al. "IL-1 blockade as a potential therapeutic target in *Aspergillois*" 6<sup>th</sup> Advances Against *Aspergillois* meeting. Madrid (Spain), February 27 - 1 March, 2014
- Iannitti RG. et al. "Hypoxia promotes danger-mediated inflammation via RAGE in Cystic Fibrosis" 6<sup>th</sup> Advances Against *Aspergillois* 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- $\gamma$  limits NF- $\kappa$ B-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 Cfr-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 Cfr-defective cholangiocytes" ICI satellite meeting, SM7, "Endotoxin, TLR4 signaling, and beyond". Cinisello Balsamo (MI), Italy, 21<sup>st</sup> August 2013
- Scirpo R. et al. "Stimulation of PPAR- $\gamma$  Nuclear Receptor Limits NF $\kappa$ B-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- $\gamma$  reduces NF $\kappa$ B-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- $\gamma$  reduces NF $\kappa$ B-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-g signaling as a novel target to limit NF- $\kappa$ B- 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- $\gamma$  reduces NF $\kappa$ B-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 Cfr-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 Berlutti (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
- Valenti 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

- Berlutti 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. Ronzoni), Carla Colombo (Fondazione IRCCS 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
- Lorè NI, Cigana C, Riva C et al. "IL-17A impairs host tolerance during airway chronic infection by *Pseudomonas aeruginosa*" ECFC Basic Science Conference 2018, 21 -24 March 2018, Loutraki Korinthias, Greece

- FFC Project#17/2013 "Preclinical study of a novel aerosol immunotherapeutic approach based on Janus-faced liposomes to enhance innate antimicrobial immunity" Maurizio Fraziano (Dip. di Biologia, Università Tor Vergata, Roma), Roberto Nisini (Dip. Malattie Infettive, Parassitarie e Immunomediate, ISS, Roma), Maurizio Sanguinetti (Ist. Microbiologia, Università Cattolica, Roma)

#### Publications

- Poerio N, Bugli F, Taus F et al "Liposomes loaded with bioactive lipids enhance antibacterial innate immunity irrespective of drug resistance" *SCI REP* 2017 Mar 27;7:45120

- 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
- Stellari F, Bergamini G, Ruscitti F et al "In vivo monitoring of lung inflammation in CFTR-deficient mice" *J Transl Med* 2016, Jul 18; 14(1): 226

#### 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 16<sup>th</sup> - 17<sup>th</sup> 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. "Nanocarrierdelivery 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
  - Abstracts
    - 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)
- 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 9
    - Cabrini G, Rimessi A, Borgatti M et al. "Role of Cystic Fibrosis Bronchial Epithelium in Neutrophil Chemotaxis" *Mucosal Immunology*, 2020 Aug 4;11:1438
  - Abstracts
    - FFC Project#16/2014 **"Lactoferrin-loaded niosomes in reducing inflammation and infection of cystic fibrosis airways"** Francesca Bertutti (Dip. Sanità Pubblica e Malattie infettive, Università "La Sapienza", Roma)
- FFC Project#16/2014 **"Lactoferrin-loaded niosomes in reducing inflammation and infection of cystic fibrosis airways"** Francesca Bertutti (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" XIIIth International Conference on Lactoferrin, Structure, Function and Applications 2-6 Novembre 2015, Nagoya Japan
  - Publications
    - Cabrini G "Innovative therapies for cystic fibrosis: the road from treatment to cure" *Molecular Diagnosis & Therapy*, 2018 Nov 26
    - Rimessi A, Bezzerri V, Salvatori F et al. "PLCB3 Loss of Function Reduces *Pseudomonas aeruginosa*-Dependent IL-8 Release in Cystic Fibrosis" *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 2018 Oct;59(4):428-436.
  - Abstracts
    - Cabrini G. et al. "Intracellular calcium mobilization as amplifier of the inflammatory response in CF bronchial epithelial cells" 13th ECF5 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#19/2014 **"Mitochondrial Ca<sup>2+</sup>-dependent inflammatory 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 Ca<sup>2+</sup>-dependent NLRP3 activation exacerbates the *Pseudomonas aeruginosa* driven inflammatory response in cystic fibrosis" *Nat Commun.* 2015 Feb 4;6:6201
    - Rimessi A, Vitto VAM, Patergnani S et al. "Update on Calcium Signaling in Cystic Fibrosis Lung Disease" *Front Pharmacol.* 2021 Mar 11;12:581645.
  - Abstracts
    - 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 Biomagnini, C.N.R Napoli)
- 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 Biomagnini, 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 human apolipoprotein E with antibacterial activity and immunomodulatory effects on human cells" *FEBS J* 2016 Jun;283(11):2115-31
    - Gaglione R, Pane K, Dell'Omo E et al. "Cost-effective production of recombinant peptides in *Escherichia coli*" *New Biotechnology* 2019 Jul 25;51:39-48
  - 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
- FFC Project#21/2014 **"Resolvin D1 for Targeting Chronic Lung Inflammation and Infection in Cystic Fibrosis"** Antonio Recchiuti (Dip. di Scienza Clinica e Sperimentale-CeSI, 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
  - 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, Napolioni V, Oikonomou V et al. "IL-1 receptor antagonist ameliorates inflammasome-dependent inflammation in murine and human cystic fibrosis" *Nature Communications*, 2016 Mar 14;7:10791
    - De Luca A, Pariano M, Cellini B et al. "The IL-17F/IL-17RC Axis Promotes Respiratory Allergy in the Proximal Airways" *Cell Reports* 2017 Aug 15;20(7):1667-1680
    - Piliiponsky AM, Romani L "The contribution of mast cells to bacterial and fungal infection immunity" *Immunological Reviews* 2018 Mar;282(1):188-197. doi: 10.1111/imr.12623
    - Costantini C, Renga G, Oikonomou V et al. "The Mast Cell-Aryl Hydrocarbon Receptor Interplay at the Host-Microbe Interface" *Mediators of Inflammation*, 2018 Oct 28;2018:7396136
    - Pucetti M, Paolicelli G, Oikonomou V et al. "Towards Targeting the Aryl Hydrocarbon Receptor in Cystic Fibrosis" *Mediators of Inflammation*, 2018 Feb 18;2018:1601486
- 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, Napolioni V, Oikonomou V et al. "IL-1 receptor antagonist ameliorates inflammasome-dependent inflammation in murine and human cystic fibrosis" *Nature Communications*, 2016 Mar 14;7:10791
    - De Luca A, Pariano M, Cellini B et al. "The IL-17F/IL-17RC Axis Promotes Respiratory Allergy in the Proximal Airways" *Cell Reports* 2017 Aug 15;20(7):1667-1680
    - Piliiponsky AM, Romani L "The contribution of mast cells to bacterial and fungal infection immunity" *Immunological Reviews* 2018 Mar;282(1):188-197. doi: 10.1111/imr.12623
    - Costantini C, Renga G, Oikonomou V et al. "The Mast Cell-Aryl Hydrocarbon Receptor Interplay at the Host-Microbe Interface" *Mediators of Inflammation*, 2018 Oct 28;2018:7396136
    - Pucetti M, Paolicelli G, Oikonomou V et al. "Towards Targeting the Aryl Hydrocarbon Receptor in Cystic Fibrosis" *Mediators of Inflammation*, 2018 Feb 18;2018:1601486

- Pariano M, Pieroni S, De Luca A et al. "Anakinra Activates Superoxide Dismutase 2 to Mitigate Inflammasome Activity" *Int J Mol Sci.* 2021 Jun 18;22(12):6531.
- FFC Project#25/2014 **"Targeting PI3K $\gamma$  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 $\gamma$ /PKA/PDE signaling complex augments cAMP/PKA signaling and CFTR activity in non-CF and  $\Delta$ F508-CF airway epithelial cells" 12th ECFS Basic Science Conference – 25-28 Marzo 2015, Algarve, Portugal
- FFC Project#12/2015 **"Anti-inflammatory and antibacterial activity of bovine lactoferrin administered by aerosol in airways infections of pre-clinical wt and CF mouse models"** Francesca Berlutti (Dip. di Salute Pubblica e Malattie Infettive - Università La Sapienza, Roma)
  - Publications
    - Valenti P, Frioni A, Rossi A "Aerosolized bovine lactoferrin reduces neutrophils and pro-inflammatory cytokines in mouse models of *Pseudomonas aeruginosa* lung infections" *Biochemistry and Cell Biology* 2017 Feb;95(1):41-47. doi: 10.1139/bcb-2016-0050. Epub 2016 Jul 8
- 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
    - Yoboue ED, Rimessi A, Anelli T et al "Regulation of Calcium Fluxes by GPX8, a Type-II Transmembrane Peroxidase Enriched at the Mitochondria-Associated Endoplasmic Reticulum Membrane" *Antioxidant & redox signalling* 2017 Sep 20;27(9):583-595. doi: 10.1089/ars.2016.6866
- FFC Project#22/2015 **"A systematic investigation of miglustat-derivative iminosugar clusters as possible anti-inflammatory agents for cystic fibrosis lung disease"** Maria Cristina Dececchi (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
    - Lampronti I, Dececchi MC, Rimessi A et al. " $\beta$ -Sitosterol Reduces the Expression of Chemotactic Cytokine Genes in Cystic Fibrosis Bronchial Epithelial Cells" *Frontiers in Pharmacology* 2017 May 12;8:236. doi: 10.3389/fphar.2017.00236
    - Chiricocci E, Loberto N, Schiumarini D et al. "Sphingolipids role in the regulation of inflammatory response: from leukocyte biology to bacterial infection" *J Leukoc Biol.* 10.1002/JLB.3MR0717-269R
    - Dececchi MC, Tamanini A, Cabrini G "Molecular basis of cystic fibrosis: from bench to bedside" *Annals of Translational Medicine* 2018 Sep;6(17):334
    - De Fenza M, D'Alonzo D, Esposito A et al. "Exploring the effect of chirality on the therapeutic potential of N-alkyl-deoxyiminosugars: anti-inflammatory response to *Pseudomonas aeruginosa* infections for application in CF lung disease" *Eur J Med Chem* 2019 Aug 1;175:63-71.
  - Abstracts
    - Dececchi 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
    - Aureli M, Loberto N, Bassi R et al. "Plasma membrane response to *P. aeruginosa* in CF lung inflammation: from molecular mechanisms to therapeutic strategies" 11 European CF Young Investigator Meeting, Paris (France) February 15-17, 2017
- Loberto N, Brocca P, Schiumarini D et al. "Development of nanoparticles for silencing the beta-glucocerebrosidase GBA2 as a promising tool to reduce cystic fibrosis lung inflammation" ECFC Basic Science Conference 2018, 21 -24 March 2018, Loutraki Korinthias, Greece
- D'Alonzo D, Guaragna A, Munari S et al. "L iminosugars: new anti-inflammatory drugs for CF lung disease?" ECFC Basic Science Conference 2018, 21 -24 March 2018, Loutraki Korinthias, Greece
- D'Alonzo D, De Fenza M, Esposito A et al. "Synthesis of N-Alkylated L-Iminosugars and their therapeutic application in cystic fibrosis lung disease" 12th Spanish-Italian Symposium on Organic Chemistry, Ferrara (Italy), July 2-4, 2018
- D'Alonzo D, De Fenza M, Esposito A et al. "Synthesis on N-Alkylated L-Iminosugar and their therapeutic application in cystic fibrosis lung disease" XXXVIII Convegno Nazionale della Divisione di Chimica Organica della Società Chimica Italiana, Milano, 9-13 settembre, 2018
- FFC Project#23/2015 **"Targeting PI3K $\gamma$  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 $\gamma$ /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
    - Ghigo A, Murabito A, Ren K et al. "Development of a PI3K $\gamma$ -derived peptide as standalone therapy to activate F508del-CFTR, limit lung inflammation and promote bronchorelaxation in Cystic Fibrosis" ECFC Basic Science Conference 2018, 21 -24 March 2018, Loutraki Korinthias, Greece
    - Murabito A, Ren K, Pirozzi F et al. "Exploiting a PI3K $\gamma$  mimetic peptide as standalone drug to restore CFTR function, reduce inflammation and limit obstruction of the respiratory tract in cystic fibrosis" ECFC Basic Science Conference 2018, 21 -24 March 2018, Loutraki Korinthias, Greece
    - Murabito A, Ren K, Pirozzi F et al. "Exploiting a PI3K $\gamma$  mimetic peptide as a CFTR modulator in cystic fibrosis" 2019 ECFS Conference, New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis. 27-30 March 2019, Dubrovnik, Croatia
- FFC Project#24/2015 **"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"** Mario Strazzabosco (Dipartimento di Chirurgia e Medicina Traslazionale, Laboratorio di Epatologia - Università degli Studi Milano-Bicocca)
  - Publications
    - Fiorotto R, Amenduni M, Mariotti V et al "Src kinase inhibition reduces inflammatory and cytoskeletal changes in  $\Delta$ F508 human cholangiocytes and improves CFTR correctors efficacy" *Hepatology* 2017 Jul 24. doi: 10.1002/hep.29400
    - Strazzabosco M, Fiorotto R, Cadamuro M et al. "Pathophysiologic implications of innate immunity and autoinflammation in the biliary epithelium" *BBA - Molecular Basis of Disease* 2018 Apr;1864(4 Pt B):1374-1379.
- FFC Project#18/2016 **"Interfering with glycosaminoglycans during *Pseudomonas aeruginosa* chronic lung infection: pre-clinical exploitation of a novel therapeutic strategy for cystic fibrosis"** Cristina Cigana (Unità Infezioni e Fibrosi Cistica, Divisione Immunologia, Trapianto e Malattie infettive, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano)
  - Publications
    - Lorè NI, Veraldi N, Riva C et al. "Synthesized Heparan Sulfate Competitors Attenuate *Pseudomonas aeruginosa* Lung Infection" *International Journal of Molecular Science* 2018 Jan 9;19(1)
- FFC Project#19/2016 **"Resolvin D1 for targeting chronic lung inflammation, infection, and damage in cystic fibrosis"** Antonio Recchiuti (Dipartimento di Scienze Mediche, Orali e Biotecnologie - Centro di Eccellenza delle Scienze dell'Invecchiamento, Università G. D'Annunzio, Chieti-Pescara)
  - Publications
    - Pierdomenico AM, Patruno S, Codagnone M et al. "microRNA-181b is increased in cystic fibrosis cells and impairs lipoxin A4 receptor-dependent mechanisms of inflammation resolution and antimicrobial defense" *SCI REP* 2017 Oct 18;7(1):13519 11-mag-18
    - Isopi E, Mattoscio D, Codagnone M et al. "Resolvin D1 enhances the resolution of lung inflammation caused by long-term *Pseudomonas*

*aeruginosa* infection" Mucosal Immunol, 2018 Jan;11(1):35-49

- Recchiuti A, Mattoscio D, Isopi E "Roles, action, and therapeutic potential of specialized pro-resolving lipid mediators for the treatment of inflammation in cystic fibrosis" Frontiers in Pharmacology 2019 Apr 2;10:252.

#### Abstracts

- Isopi E, Mattoscio D, Mari VC et al. "Harnessing resolution mediators as novel therapeutic for cystic fibrosis" North American Cystic Fibrosis Conference (NACF), October 18-20, 2018, Denver, CO, USA (Thematic poster view)
- Mattoscio D, Isopi E, Mari VC et al. "Resolvin D1 for targeting lung inflammation, infection, and damage in CF" North American Cystic Fibrosis Conference (NACF), October 18-20, 2018, Denver, CO, USA (Workshop presentation)
- Recchiuti A "Resolvins, lipoxins, and maresins in resolution of inflammation in cystic fibrosis" North American Cystic Fibrosis Conference (NACF), October 18-20, 2018, Denver, CO, USA (Invited Symposium lecture)
- Recchiuti A, Isopi E, Mattoscio D et al. "Harnessing resolution mediators as innovative therapeutics for cystic fibrosis" 2nd International Conference on Pharmacology, August 16-18, Rome, Italy
- Isopi E, Mattoscio D, Romano M et al. "Protective role of RVD1 and its receptor in cystic fibrosis" North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC), October 31 - November 2, 2019 Nashville, TN (USA)
- Mattoscio D, Isopi E, Lamolinara A et al. "Resolvin D1 promotes resolution of inflammation, infection, and damage in CF" North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC), October 31 - November 2, 2019 Nashville, TN (USA)
- Recchiuti A, Mattoscio D, Isopi E et al. "Actions of Resolvin D1 and D2 in cystic fibrosis MRSA lung infection and inflammation" North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC), October 31 - November 2, 2019 Nashville, TN (USA)

- FFC Project#21/2017 "Testing the anti-inflammatory effects of matrix metalloprotease inhibitors in *P. aeruginosa*-infected CFTR-knockout mice by in vivo imaging techniques" Federico Boschi (Dipartimento di Informatica, Università degli Studi di Verona)

#### Publications

- Sandri A, Lleo MM, Signoretto C et al. "Protease inhibitors elicit anti-inflammatory effects in CF mice with *Pseudomonas aeruginosa* acute lung infection" The Journal of Translational Immunology, 18 September 2020
- Passarelli Mantovani R, Sandri A, Boaretti M et al. "Longitudinal monitoring of sinonasal and oral bacterial reservoirs to prevent chronic lung infection in people with cystic fibrosis" European Respiratory Journal 2020 Jul; 6(3): 00115-2020
- Sandri A, Lleo MM, Boschi F et al. "Protease inhibitors elicit anti-inflammatory effects in mice with *Pseudomonas aeruginosa* acute lung infection" Clin Exp Immunol. 2021 Jan;203(1):87-95.

#### Abstracts

- Sandri A, Lleo MM, Boschi F "Protease inhibitors elicit anti-inflammatory effects in mice with *Pseudomonas aeruginosa* acute lung infection" 42nd European Cystic Fibrosis Conference, 5-8 June 2019, Liverpool, UK

- FFC Project#23/2017 "Enabling pulmonary delivery of siRNA in cystic fibrosis lung inflammation: therapeutic potential of hybrid lipid/polymer nanoparticles" Francesca Ungaro (Dipartimento di Farmacia, Università degli Studi di Napoli Federico II), Olivia Monica Merkel (Dept. Pharmazie, Ludwig-Maximilians Universität, München)

#### Abstracts

- Costabile G, Baldassi D, d'Angelo I et al. "In vitro evaluation of siRNA loaded hNPs for the treatment of cystic fibrosis" NIM Conference "The Future of Nanoscience", Tutzing, Germany, September 4-6, 2018
- d'Angelo I, Costabile G, Durantie E et al. "Inhalable hybrid lipid/polymer nanoparticles for pulmonary delivery of siRNA in cystic fibrosis" 11th World Meeting on Pharmaceuticals, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Granada, Spain, March 19-22, 2018

- FFC Project#23/2018 "Evaluation of anti-inflammatory treatments for CF lung disease in murine models of lung infection in vivo" Maria Cristina Dechechi (Dip. Patologia e Diagnostica, Lab. Patologia Molecolare, AOUI Verona), Annalisa Guaragna (Università degli Studi di Napoli Federico II, Dip. Scienze Chimiche)

#### Publications

- Esposito A, D'Alonzo D, De Fenza M et al. "Synthesis and Therapeu-

tic Applications of Iminosugars in Cystic Fibrosis" Int J Mol Sci. 2020 May 9;21(9):3353

- FFC Project#24/2018 "Pharmacology and therapeutics of inhaled indoles, as aryl hydrocarbon receptor ligands, in cystic fibrosis" Luigina Romani (Università degli Studi di Perugia, Dip. Medicina Sperimentale)

#### Publications

- Napolioni V, Pariano M, Borghi M et al. "Genetic Polymorphisms Affecting IDO1 or IDO2 Activity Differently Associate With Aspergillosis in Humans" Frontiers in Immunology, 2019 May 7;10:890
- van de Veerdonk F, Servillo G, De Luca A et al. "Anakinra restores cellular proteostasis by coupling mitochondrial redox balance to autophagy" Science, submitted
- Costantini C, Puccetti M, Pariano M et al. "Selectively targeting key inflammatory pathways in cystic fibrosis" European Journal of Medicinal Chemistry 2020 Aug 9;206:112717
- Napolioni V, Pariano M, Borghi M et al. "Genetic Polymorphisms Affecting IDO1 or IDO2 Activity Differently Associate With Aspergillosis in Humans" Frontiers in Immunology 2019; 10: 890
- Puccetti M, Pariano M, Renga G et al. "Targeted Drug Delivery Technologies Potentiate the Overall Therapeutic Efficacy of an Indole Derivative in a Mouse Cystic Fibrosis Setting" Cells. 2021 Jun 25;10(7):1601

- FFC Project#25/2018 "Enabling pulmonary delivery of siRNA in cystic fibrosis lung inflammation: therapeutic potential of hybrid lipid/polymer nanoparticles" Francesca Ungaro (Università degli Studi di Napoli Federico II, Dip. Farmacia), Olivia Monica Merkel (Dept. Pharmazie, Ludwig-Maximilians Universität, München)

#### Abstracts

- Baldassi D, Costabile G, Conte G et al. "In vitro evaluation of siRNA loaded hNPs for the treatment of cystic fibrosis" International Conference on Nanomedicine and Nanobiotechnology 2019 (ICONAN 2019), October 16th - 18th, 2019, Munich, Germany
- d'Angelo I, Conte G, Costabile G et al. "Enabling pulmonary delivery of siRNA in cystic fibrosis lung inflammation through hybrid lipid/polymer nanoparticles" International Society for Aerosol in Medicine e.V., 22nd ISAM Congress, Montreaux, Switzerland, May 25-29, 2019
- d'Angelo I, Conte G, Costabile G et al. "Tailored hybrid lipid/polymer nanoparticles for pulmonary delivery of siRNA in cystic fibrosis" IV International Caparica Symposium on Nanoparticles/Nanomaterials and Applications 2020 (ISN2A2020), January 20th-23rd, 2020, Caparica, Portugal
- Ungaro F "Overcoming lung barriers to siRNA delivery in cystic fibrosis through tailored lipid/polymer hybrid nanoparticles" 11th Annual RNA Therapeutics Conference Focus Day - Oligonucleotide Delivery Systems, 18th February 2020, London, UK
- Costabile G, Buroni S, Provenzano R et al. "Elongated mucus-penetrating nanocrystals for lung delivery of a new anti-*Burkholderia* agent in cystic fibrosis" International Society for Aerosol in Medicine e.V., 22nd ISAM Congress, Montreaux, Switzerland, May 25-29, 2019
- Costabile G, Provenzano R, Mitidieri E et al. "Repurposing Gallium for local treatment of *P. aeruginosa* lung infections through sustained-release dry powders for inhalation" International Society for Aerosol in Medicine e.V., 22nd ISAM Congress, Montreaux, Switzerland, May 25-29, 2019
- d'Angelo I, Casciaro B, Zhang X et al. "Biodegradable nanoparticles for prolonged therapeutic efficacy of antimicrobial peptides against *Pseudomonas aeruginosa* lung infections" International Society for Aerosol in Medicine e.V., 22nd ISAM Congress, Montreaux, Switzerland, May 25-29, 2019

- FFC Project#29/2018 "Identification and validation of circulating microvesicles analysis as a new ex vivo assay to monitor cystic fibrosis disease" Mario Romano (Dip. Scienze Mediche, Orali e Biotecnologiche, Lab. Medicina Molecolare, CeSIMeT Università Chieti-Pescara)

#### Abstracts

- Lanuti P, Patruno S, Bologna G et al. "Circulating extracellular vesicles as new biomarkers of cystic fibrosis disease" North American Cystic Fibrosis Conference, November 2 - 5, 2021, Fully Virtual

- FFC Project#18/2019 "Investigating *Achromobacter xylosoxidans* pathogenicity and clinical role in CF lung infection" Maria M. Lleo (Dip. Diagnostica e Sanità Pubblica, Università di Verona)

#### Publications

- Veschetti L, Sandri A, Patuzzo C et al. "Genomic characterization of *Achromobacter* species isolates from chronic and occasional

lung infection in cystic fibrosis patients" *Microb Genom.* 2021 Jul;7(7):000606

- Veschetti L, Sandri A, Patuzzo C et al. "Mobilome Analysis of *Achromobacter* spp. Isolates from Chronic and Occasional Lung Infection in Cystic Fibrosis Patients" *Microorganisms.* 2021 Jan 8;9(1):130.

#### Abstracts

- Veschetti L, Sandri A, Passarelli Mantovani R et al. "Hypermutation as an evolutionary mechanism for *Achromobacter* spp. in cystic fibrosis lung infection" 43rd European Cystic Fibrosis Conference – 2020 (ECFC), virtual conference
- Veschetti L, Sandri A, Saitta G et al. "Virulence and antibiotic resistance of *Achromobacter* spp. isolates from chronic and occasional lung infection in cystic fibrosis patients" North American Cystic Fibrosis Conference, November 2 - 5, 2021, Fully Virtual

- FFC Project#20/2019 "Evaluation of anti-inflammatory treatments for CF lung disease in murine models of lung infection in vivo: insights on the anti-inflammatory effect of  $\beta$ -sitosterol and anti-inflammatory/anti-infective activity of L-miglustat" Maria Cristina Dehecchi (Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona, Laboratorio di Patologia Molecolare-Laboratorio Analisi), Annalisa Guaragna (Università di Napoli Federico II, Dip. di Scienze Chimiche)

#### Publications

- De Fenza M, D'Alonzo D, Esposito A et al. "Exploring the effect of chirality on the therapeutic potential of Nalkyl-deoxyiminosugars: anti-inflammatory response to *Pseudomonas aeruginosa* infections for application in CF lung disease" *Eur J Med Chem.* 2019 Aug 1;175:63-71
- De Gregorio E, Esposito A, Vollario A et al. "N-Nonyloxypentyl-L-Deoxynojirimycin Inhibits Growth, Biofilm Formation and Virulence Factors Expression of *Staphylococcus aureus*" *Antibiotics* 2020 Jun 26;9(6):362
- Esposito A, D'Alonzo D, De Fenza M et al. "Synthesis and Therapeutic Applications of Iminosugars in Cystic Fibrosis" *International Journal of Molecular Sciences* 2020 May; 21(9): 3353

#### Abstracts

- Esposito A, De Fenza M, D'Alonzo M et al. "N-Alkylated L-iminosugars as novel anti-inflammatory and anti-biofilm tools for cystic fibrosis lung infections" 7th EFMC International Symposium on Advances in Synthetic and Medicinal Chemistry, Athene, Greece, 1-5 Settembre 2019
- Esposito A, De Fenza M, D'Alonzo D et al. "N-Alkylated L-iminosugars as novel anti-inflammatory and anti-biofilm tools for Cystic Fibrosis Lung Infections" 6th EFMC Young Medicinal Chemist Symposium, Athene, Grecia, 5-6 Settembre 2019

- FFC Project#22/2019 "Multi-task evaluation of TMA analogues as anti-inflammatory treatments for CF lung disease" Ilaria Lampronti (Dip. Scienze della vita e biotecnologie, Sez. biochimica e biologia molecolare, Università di Ferrara)

#### Publications

- Cabrini G, Rimessi A, Borgatti E et al. "Role of Cystic Fibrosis Bronchial Epithelium in Neutrophil Chemotaxis" *Frontiers in Immunology*, 2020 Aug 4;11:1438
- Rimessi A, Pozzato C, Carparelli L et al. "Pharmacological modulation of mitochondrial calcium uniporter controls lung inflammation in cystic fibrosis" *Science Advances* 2020 May; 6(19): eaax9093

- FFC Project#23/2019 "Potential action of phages as immunomodulators in cystic fibrosis" Anna Silvia Pistocchi (Dip. Biotecnologie Mediche e Medicina Traslazionale, Università degli Studi di Milano)

#### Publications

- Cafora M, Brix A, Forti F et al. "Phages as immunomodulators and their promising use as anti-inflammatory agents in a cftr loss-of-function zebrafish model" *J Cyst Fibros.* 2020 Dec 6;S1569-1993(20)30927-9.

#### Abstracts

- Cafora M, Forti F, Brix A et al. "Potential action of phages as immunomodulators in cystic fibrosis" 43rd European Cystic Fibrosis Conference – 2020 (ECFC), virtual conference

- FFC Project#16/2020 "Exploring the dual targeting of host and microbial sphingosine-1-phosphate lyase as antimicrobial strategy in cystic fibrosis" Barbara Cellini (Università degli Studi di Perugia, Dip. di Medicina Sperimentale)

#### Abstracts

- Costantini C, Pariano M, Pampalone G et al. "Dual targeting of host and fungal sphingosine-1-phosphate lyase as antifungal strategy

in cystic fibrosis" North American Cystic Fibrosis Conference, November 2 - 5, 2021, Fully Virtual

- FFC Project#13/2021 "Probiotics: an emerging strategy to fight bacterial pulmonary infections in CF" Giovanna Batoni (Dipartimento di Ricerca Traslazionale e delle Nuove Tecnologie in Medicina e Chirurgia, Università di Pisa)

#### Publications

- Kaya E, Batoni G, Di Luca M et al. "Planktonic and Biofilm-Associated *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus epidermidis* Elicit Differential Human Peripheral Blood Cell Responses" *Microorganisms.* 2021 Aug 31;9(9):1846.

## 5. CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL RESEARCH

### Ricerca clinica ed epidemiologica

- 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)

#### Publications

- Castellani C, Picci L, Tridello G et al. "Cystic fibrosis carrier screening effects on birth prevalence and newborn screening" *Genet Med.* 2016 Feb;18(2):145-51.

- 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)

#### Publications

- Ciet P, Bertolo S, Ros M et al. "Detection and monitoring of lung inflammation in cystic fibrosis during respiratory tract exacerbation using diffusion-weighted magnetic resonance imaging" *European Respiratory Journal*, 2017 Jul 20;50(1)

#### 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" 36<sup>th</sup> 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
- Caldre 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

#### Abstracts

- Vercellone S, Averna M, Pedrazzi M et al. "Measure of CFTR expression and function in peripheral blood leukocytes" 1th Italian CF Young Investigators Meeting, January 16th-17th 2015, Rome

- 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 IRCSS Ca' Granda, Milano), Mirella Collura (Centro FC, Ospedale "G. Di Cristina", Palermo), Giuseppe Magazzù (Centro FC, Messina), Valeria Raia (Centro FC, Napoli)

#### Publications

- Dolce D, Neri S, Grisotto L et al. "Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* eradication in cystic fibrosis patients: A randomized multicenter study" *PLoS ONE*, 2019 Mar 22;14(3):e0213497

#### 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
- Dolce D, Ravenni N, Campana S et al. "Longitudinal study of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* genetic background isolated from cystic fibrosis patients" 40th European Cystic Fibrosis Conference, Seville, Spain, 7-10 June 2017
- FFC Project#21/2013 "**Clinical implications of the natural history of insulin secretory and sensitivity defects in cystic fibrosis**" *Alberto Battezzati* (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
  - Alicandro G, Battezzati A, Bianchi ML et al. "Estimating body composition from skinfold thicknesses and bioelectrical impedance analysis in cystic fibrosis patients" *Journal of Cystic Fibrosis*, 2015 Nov;14(6):784-91

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
  - Mosconi P, Colombo C, Roberto A et al. "Deciding on cystic fibrosis carrier screening: three citizens' juries and an online survey" *Eur J Public Health.* 2018 Mar 19

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)
 

Publications

  - Bortoluzzi CF, Pontello E, Pintani E et al. "The impact of chest computed tomography and chest radiography on clinical management of cystic fibrosis lung disease" *Journal of Cystic Fibrosis*, 2019 Sep 4. pii: S1569-1993(19)30837-9.

Abstracts

  - Bortoluzzi C.F. et al. "TAC e RX torace possono influenzare il trattamento clinico dei bambini con CF?" 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 (CUSSEB-Centro Universitario di Statistica per le Scienze Biomediche, Università Vita-Salute San Raffaele Milano), Stefan Niemann (Molecular Mycobacteriology, Research Center Borstel)
 

Publications

  - Tortoli E, Kohl TA, Brow-Elliott BA et al. "Emended description of *Mycobacterium abscessus*, *Mycobacterium abscessus* subsp. *abscessus* and *Mycobacterium abscessus* subsp. *bolletii* and designation of *Mycobacterium abscessus* subsp. *massiliense* comb. nov." *Int. J. Systematic and Evolut. Microbiology* 2016 Nov;66(11):4471-4479.
  - Tortoli E, Kohl TA, Trovato A et al. "*Mycobacterium abscessus* in patients with cystic fibrosis: low impact of inter-human transmission in Italy" *European Respiratory Journal* 2017 Jul 13;50(1). pii: 1602525.
  - Trovato A, Baldan R, Costa D et al. "Molecular typing of *Mycobacterium Abscessus* isolated from cystic fibrosis patients" *International Journal of Mycobacteriology* 2017 Apr-Jun;6(2):138-141.

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
  - Granata S, Santoro G, Masola V et al. "In Vitro Identification of New Transcriptomic and miRNomic Profiles Associated with Pulmonary Fibrosis Induced by High Doses Everolimus: Looking for New Pathogenetic Markers and Therapeutic Targets" *Int. J. Mol. Sci.* 2018 Apr 20;19(4).
- FFC Project#29/2014 "**Properties of airway mucus in cystic bronchitis: 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#25/2015 "**Are CF guidelines credible? Evaluating methodological issues**" Cesare Braggion (Dipartimento di Medicina Pediatrica, Centro Regionale Fibrosi Cistica - Ospedale dei Bambini A. Meyer, Firenze)

### Abstracts

- Terlizzi V, Cirilli N, Galici V et al. "Are cystic fibrosis guidelines credible? Evaluating methodological issues" 40th European Cystic Fibrosis Conference, Seville, Spain, 7–10 June 2017
- FFC Project#27/2015 **"Intra-individual biological variation in sweat chloride concentrations"** Natalia Cirilli (Centro di Riferimento per fibrosi cistica, Ospedale dei Bambini G. Salesi, Dipartimento Materno Infantile degli Ospedali Riuniti, Ancona)

### Publications

- Cirilli N, Raia V, Rocco I et al. "Intra-individual biological variation in sweat chloride concentrations in CF, CFTR dysfunction, and healthy pediatric subjects" *Pediatr Pulmonol* 2018 Jun;53(6):728-734

### Abstracts

- Cirilli N, Raia V, De Gregorio F et al. "Intra-individual biological variation in sweat chloride concentrations" 40th European Cystic Fibrosis Conference, Seville, Spain, 7–10 June 2017

- FFC Project#28/2015 **"Cystic fibrosis and meconium ileus: a multicentric study on risk factors for adverse outcome in infancy"** Rita Padoan (Centro di Supporto per fibrosi cistica - Università di Brescia, Ospedale dei Bambini, Azienda Ospedaliera Spedali Civili, Brescia)

### Abstracts

- Padoan R, Cesana BM, Falchetti D et al. "Cystic Fibrosis and meconium ileus: a multicentric study on risk factors for adverse outcome in infancy" XIII Congresso Nazionale SIFC, Napoli, 22-25 Novembre 2017

- 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
- Bergamini G, Stellari F, Sandri A et al. "An IL-8 Transiently Transgenised Mouse Model for the In Vivo Long-term Monitoring of Inflammatory Responses" *J Vis Exp*. 2017 Jul 7;(125). doi: 10.3791/55499

### Abstracts

- Vercellone S, Caldrea S, Johansson J. et al. "Testing flow cytometry to detect CFTR expression recovery after drug treatment in epithelial cell lines" 13th ECF5 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 ECF5 Basic Science Conference, 30 March – 2 April 2016, Pisa, Italy
- Vercellone S., Caldrea S., Johansson J.E. et al. "Flow cytometric detection of cfr expression recovery after drug treatment in epithelial cell lines and leukocytes" 30th Cystic Fibrosis North American Conference, October 27-29, 2016, Orlando (Florida)
- Averna M, Vercellone S, Pedrazzi M et al "Setup of a simplified method to measure CFTR-dependent iodine transport: HS-YFP assay" 17th Scientific Meeting "Organoids as models for disease and treatment in CF" September 21st + 22nd 2017 Schloss Waldhausen/Mainz
- Averna M, Vercellone S, Pedrazzi M et al "A simple method to measure CFTR-dependent iodine transport peripheral blood mononuclear cells: HS-YFP assay" North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC), November 2-4, 2017, Indianapolis
- Averna M, Vercellone S, Pedrazzi M et al. "A simple method to measure CFTR-dependent iodine transport peripheral blood mononuclear cells: HS-YFP assay" North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC), November 2-4, 2017, Indianapolis

- FFC Project#30/2015 **"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"** Giovanni Taccetti (Dipartimento di Medicina Pediatrica, Centro fibrosi cistica - Università di Firenze, Ospedale dei Bambini A. Meyer, Firenze)

### Abstracts

- Dolce D, Ravenni N, Campana S et al "Importance of upper airways in early P. Aeruginosa infection in CF" XIII Congresso Nazionale SIFC, Napoli, 22-25 Novembre 2017
- Dolce D, Ravenni N, Campana S et al "Role of paranasal sinuses in

early P. aeruginosa infection in CF" North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC), November 2-4, 2017, Indianapolis

- Dolce D, Ravenni N, Campana S et al "Importance of upper airways in early P. aeruginosa infection in CF" XIII Congresso Nazionale SIFC, Napoli, 22-25 Novembre 2017
- Dolce D, Ravenni N, Campana S et al. "Importance of upper airways in early P. aeruginosa infection in CF" XIII Congresso Nazionale SIFC, Napoli, 22-25 Novembre 2017
- Dolce D, Ravenni N, Campana S et al. "Role of paranasal sinuses in early P. aeruginosa infection in CF" North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC), November 2-4, 2017, Indianapolis
- Dolce D, Ravenni N, Campana S et al. "Importance of upper airways in early P. Aeruginosa infection in CF" XIII Congresso Nazionale SIFC, Napoli, 22-25 Novembre 2017
- Dolce D, Ravenni N, Campana S et al. "Molecular monitoring of P. aeruginosa early eradication treatment" North American Cystic Fibrosis Conference (NACF), October 18-20, 2018, Denver, CO, USA
- Dolce D, Ravenni N, Campana S et al. "Phenotyping and molecular monitoring of P. aeruginosa during early eradication treatment" North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC), October 31 - November 2, 2019 Nashville, TN (USA)

- FFC Project#20/2016 **"Italian multicenter study of glucose tolerance defects in cystic fibrosis"** Alberto Battezzati (Centro Internazionale per Inquadramento dello Stato Nutrizionale-ICANS, DeFENS, Università degli Studi di Milano)

### Publications

- Colombo C, Alicandro G, Gambazza S et al. "Ventilation inhomogeneity is associated with OGTT-derived insulin secretory defects in cystic fibrosis" *Pediatr Pulmonol* 2018 Dec 21. doi: 10.1002/ppul.24212.

### Abstracts

- Nazzari E, Guarise R, Mileto P et al. "Relationship between glucose and insulin response during an oral glucose tolerance test (OGTT) and lung clearance index in cystic fibrosis patients" XIII Congresso Nazionale SIFC, Napoli, 22-25 Novembre 2017

- FFC Project#22/2016 **"Environmental and human reservoirs of Pseudomonas aeruginosa and other bacterial species colonizing the lower airways of cystic fibrosis patients"** Caterina Signoretto (Dipartimento di Diagnostica e Sanità Pubblica, Sezione di Microbiologia, Università di Verona)

### Publications

- Passarelli Mantovani R, Sandri A, Boaretti M et al. "Toothbrushes may convey bacteria to the cystic fibrosis lower airways" *Journal of Oral Microbiology*, 2019 Aug 7;11(1):1647036. doi: 10.1080/20002297

### Abstracts

- Sandri A, Cazzaroli C, Burlacchini G et al. "Human reservoirs of pathogens colonising the airways of cystic fibrosis patients" 41st European Cystic Fibrosis Conference, Belgrade, Serbia, 6-9 June 2018
- Passarelli Mantovani R, Burlacchini G, Sandri A et al. "Human and environmental reservoirs of bacterial species colonising the lower airways of cystic fibrosis patients" 42nd European Cystic Fibrosis Conference, 5-8 June 2019, Liverpool, UK
- Passarelli Mantovani R, Signoretto C, Sandri A et al. "Investigação do papel dos reservatórios bacterianos para infecção pulmonar crônica em paciente com fibrose cística" *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, VII Congresso Brasileiro de Fibrose Cística, 1-4 de maio de 2019, Expo D. Pedro, Campinas, SP

- FFC Project#27/2018 **"Use of multivolume MRI instead of ionizing imaging techniques for surveillance in young patients after lung transplantation for cystic fibrosis"** Alessandro Palleschi (Fondazione IRCCS Ca' Granda - Ospedale Maggiore Policlinico, Milano)

### Publications

- Pennati F, Salito C, Borzani I et al. "Quantitative Multivolume Proton-Magnetic Resonance Imaging in Lung Transplant Recipients: Comparison With Computed Tomography and Spirometry" *Acad Radiol*. 2021 Oct;28(10):e297-e305.

- FFC Project#30/2018 **"Cystic Fibrosis screen positive inconclusive diagnosis (CFSPID): an italian multicenter survey evaluating prevalence, clinical data, management and outcome"** Vito Terlizzi (Centro FC, AOU Meyer, Firenze), Rita Padoan (Centro supporto FC, Spedali Civili, Brescia); Antonella Tosco (Centro FC, Università Federico II, Napoli), Laura Elisabetta Claut (IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano)

### Publications

- Terlizzi V, Mergni G, Buzzetti R et al. Cystic fibrosis screen positive inconclusive diagnosis (CFSPID): experience in Tuscany, Italy, Jour-

nal of Cystic Fibrosis, 2019 Jul;18(4):484-490

- Taccetti G, Botti M, Terlizzi V et al. "Clinical and Genotypical Features of False-Negative Patients in 26 Years of Cystic Fibrosis Neonatal Screening in Tuscany, Italy" *Diagnostics (Basel)* 2020 Jul 1;10(7):446
- Terlizzi V, Mergni G, Centrone C et al. "Trend of sweat chloride values in a cohort of patients carrying CFTR mutations of varying clinical consequence: Is there a risk of increasing sweat chloride over time?" *Pediatr Pulmonol* 2020 May;55(5):1089-1093
- Castaldo A, Cimbalo C, Castaldo RJ et al. "Cystic Fibrosis-Screening Positive Inconclusive Diagnosis: Newborn Screening and Long-Term Follow-Up Permits to Early Identify Patients with CFTR-Related Disorders" *Diagnostics (Basel)* 2020 Aug 8;10(8):E570
- Terlizzi V, Padoan R, Claut L et al. "CRMS/CFSPID Subjects Carrying D1152H CFTR Variant: Can the Second Variant Be a Predictor of Disease Development?" *Diagnostics (Basel)*. 2020 Dec 12;10(12):1080.
- Terlizzi V, Claut L, Tosco A et al. "A survey of the prevalence, management and outcome of infants with an inconclusive diagnosis following newborn bloodspot screening for cystic fibrosis (CRMS/CFSPID) in six Italian centres" *J Cyst Fibros*. 2021 Sep;20(5):828-834.
- Terlizzi V, Padoan R "Infants with cystic fibrosis transmembrane conductance regulator-related metabolic syndrome/cystic fibrosis screen positive, inconclusive diagnosis and acute recurrent pancreatitis: what definition?" *J Med Screen*. 2021 Jul 13;9691413211031613.
- Botti M, Terlizzi V, Francalanci M et al. "Cystic fibrosis in Tuscany: evolution of newborn screening strategies over time to the present" *Ital J Pediatr*. 2021 Jan 6;47(1):2.
- Terlizzi V, Claut L, Colombo C et al. "Outcomes of early repeat sweat testing in infants with cystic fibrosis transmembrane conductance regulator-related metabolic syndrome/CF screen-positive, inconclusive diagnosis" *Pediatr Pulmonol*. 2021 Sep 22

#### Abstracts

- Terlizzi V, Mergni G, Buzzetti R et al. "Cystic fibrosis screen positive, inconclusive diagnosis: six years of experience in an Italian cystic fibrosis center" 32th Annual North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC) 2018
- Marino D, Polizzi S, Tradati V, et al. "Psychological impact on parents of CRMS/CFSPID subjects compared to parents of Cystic Fibrosis patients" XXVII Congresso Italiano della Società Italiana per lo studio della Fibrosi Cistica – XVII Congresso Nazionale della Società Italiana per lo Studio della Fibrosi Cistica – Napoli, 20-23 ottobre 2021.
- FFC Project#27/2019 **"Right ventricle dysfunction in cystic fibrosis patients undergoing lung transplantation"** Vittorio Scaravilli (Dipartimento Anestesia, Rianimazione ed Emergenza, Fondazione IRCCS Ca' Granda - Ospedale Maggiore Policlinico Milano)

#### Publications

- Scaravilli V, Scansani S, Grasso A et al. "Right Ventricle Dysfunction in Patients With Adult Cystic Fibrosis Enlisted for Lung Transplant" *Transplant Proc*. Jan-Feb 2021;53(1):260-264

## FFC Ricerca Facilities

- **Cystic Fibrosis animal Core facility 1 (CFaCore 1)** 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
- Facchini M, De Fino I, Riva C, Bragonzi A "Long term chronic *Pseudomonas aeruginosa* airway infection in mice" *J Vis Exp* 2014 Mar 17;(85). doi: 10.3791/51019
- Cigana C, Ranucci S, Rossi A et al. "Antibiotic efficacy varies based on the infection model and treatment regimen for *Pseudomonas aeruginosa*" *Eur Respir J*. 2020 Mar 5;55(3):1802456.

#### Abstracts

- Facchini M, De Fino I, Riva C et al. "Long Term Chronic *Pseudomonas aeruginosa* Airway Infection in Mice" <https://www.jove.com/video/51019>
- Cigana C, Ranucci S, Rossi A et al. "Treating acute and chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection: what can we learn from mouse models?" ECFC Basic Science Conference 2018, 21 -24 March 2018, Loutraki Korinthias, Greece

- **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

- **Servizio Colture Primarie** Luis Galletta (Laboratorio Genetica Molecolare, Istituto G. Gaslini, Genova)

#### Publications

- Prandini P, De Logu F, Fusi C, Provezza L et al. "Transient Receptor Potential Ankyrin 1 Channels Modulate Inflammatory Response in Respiratory Cells from Patients with Cystic Fibrosis" *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* 2016 Nov;55(5):645-656.
- Gianotti A, Capurro V, Del Piano L et al. "Small Molecule Anion Carriers Correct Abnormal Airway Surface Liquid Properties in Cystic Fibrosis Airway Epithelia" *International Journal of Molecular Sciences* 2020 Feb 21;21(4). pii: E1488.
- Gianotti A, Delpiano L, Caci E "In vitro Methods for the Development and Analysis of Human Primary Airway Epithelia" *Frontiers in Pharmacology* 2018 Oct 26;9:1176
- Ferrera L, Capurro V, Delpiano L et al. "The Application of Bicarbonate Recovers the Chemical-Physical Properties of Airway Surface Liquid in Cystic Fibrosis Epithelia Models" *Biology (Basel)*. 2021 Mar 29;10(4):278.



## Appendix 2

# *Institutes and Laboratories involved in the 439 projects funded by Italian CF Research Foundation 2002-2021*

## Istituti e Laboratori attivi nei 439 progetti finanziati da FFC Ricerca dal 2002 al 2021

### 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., Università Chieti-Pescara Centro FC, Teramo
- Lab. Citomorfologia, Dip. Medicina e Scienze dell'Invecchiamento, Università Chieti-Pescara

#### 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, Università Federico II, Napoli
- Dip. Farmacologia Sperimentale, Università Federico II, Napoli
- Dip. Chimica e Biochimica organica, Università Federico II, 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
- Telethon Institute of Genetics and Medicine (TIGEM), Pozzuoli, Napoli
- The Center for Advanced Biomaterials for Healthcare, CRIB, Istituto Italiano di Tecnologia, Napoli
- Centro di Ricerca Interdipartimentale sui Biomateriali, Università Federico II, Napoli
- Dip. di Biologia, Università Federico II, Napoli
- Dip. Scienze Chimiche, Università Federico II, Napoli
- Dip. di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università Federico II, 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, Scienze della Vita e Sostenibilità ambientale, Università degli Studi di Parma
- Istituto di Scienza e Tecnologia dei materiali ceramici ISTECCNR, Faenza

#### 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 Bambino 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, Università La Sapienza, Roma
- Dip. di Medicina interna e vascolare, Università 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, Roma
- Centro fibrosi cistica, Policlinico Umberto I
- Dip. Salute pubblica e Malattie Infettive, Università La Sapienza, Roma, Roma
- Dip. Biologia e Biotecnologie, Università La Sapienza, Roma, Roma
- IRBM Science Park, Roma
- Dip. Malattie Infettive, Parassitarie e Immunomediate, Istituto superiore di sanità, Roma
- Dip. Oncologia e Medicina Molecolare, Istituto Superiore di Sanità, Roma
- Istituto di Microbiologia, Università Cattolica del Sacro Cuore, Fondazione Policlinico Gemelli, Roma
- Istituto Italiano Pasteur - Cenci Bolognetti Foundation, Roma

- Dip. Medicina Molecolare, Lab. Virologia, Università La Sapienza, Roma
- Unità di Microbiologia e Virologia, Policlinico Umberto I
- Divisione Microbiologia clinica, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma
- Dip. Chimica e Tecnologia del Farmaco, Università La Sapienza, 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 degli Studi di Genova
- Lab. Fisiopatologia molecolare dei canali ionici - Centro Biotecnologie Avanzate, Ist. Gaslini, Genova
- Dip. Farmacia (DIFAR), Università di Genova
- Analytical Chemistry Facility, Fondazione Istituto Italiano di Tecnologia, Genova
- Div. Malattie Infettive, Università di Genova, Ospedale San Martino, Genova
- Dip. Neuroscienze, Riabilitazione, Oftalmologia, Genetica e Scienze Materno-Infantili (DINOGLI), Università degli Studi 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, Università 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
- U.O. di Chirurgia Toracica e Trapianto di Polmone, Università degli Studi di Milano, IRCCS Fondazione Ca' Granda Ospedale Maggiore di Milano
- Dip. di Biologia e Biotecnologia "Lazzaro Spallanzani", Lab. Microbiologia molecolare, Università degli Studi di Pavia
- Istituto di Chimica del Riconoscimento Molecolare, CNR, Milano
- Istituto di Genetica e Ricerca biomedicale, IRGB - CNR, Milano
- Divisione Genetica e Biologia Cellulare, Unità dinamica della cromatina, Ospedale San Raffaele, Milano
- Politecnico di Milano, Dip. Elettronica, Informazione e Bioingegneria
- Dip. Psicologia, Università Cattolica, Milano

#### MARCHE

- Centro Fibrosi Cistica-Ospedale dei Bambini - Centro FC, Ancona
- Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università Politecnica delle Marche
- Scuola di Bioscienze e Medicina Veterinaria, Università di Camerino
- Dip. Scienze Biomolecolari e Biotecnologiche, Università di Urbino
- Centro di Epidemiologia, Biostatistica e Informatica Medica, Università Politecnica delle Marche

#### 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
- Dip. Scienze e Innovazione Tecnologica, Università Piemonte Orientale

#### PUGLIA

- Dip. Fisiologia Generale ed Ambientatale - Università di Bari, Bari
- Servizio Fibrosi Cistica - Ospedale di Cerignola, Cerignola
- Dipartimento di Pediatria - Policlinico - Università di Bari
- Dip. Scienze Mediche e Chirurgiche, Università di Foggia
- Istituto Biomembrane e Bioenergetica e Biotecnologie Molecolari, CNR, Bari
- Istituto per la microelettronica e microsistemi (IMM), CNR, Lecce

## SARDEGNA

- Dip. di Scienze biomediche e biotecnologie, Lab. Genetica Molecolare - Ospedale Reg. Microcitemie, 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 Cristina", 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
- Unità di Gastroenterologia Pediatrica e Fibrosi Cistica, AOU Messina

## 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 Diagnostica 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 Trasazionale NTMS - Lab. Patologia Generale, Università di Pisa
- Dip. di Scienze della Salute, Università degli Studi di Firenze
- Unità Infezione e Malattie Tropicali, Azienda Ospedaliero-Università Careggi, Firenze

## TRENTINO-ALTO ADIGE

- CIBIO - Centre for Integrative Biology, Università di Trento
- CIBIO - Centre for Integrative Biology, Università di Trento, Computational Metagenomics Lab
- Istituto di Biofisica, CNR, Trento

## 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. Medicina Sperimentale e Scienze Biomediche, Università degli Studi di Perugia
- Dip. Biotecnologie, Università degli Studi di Siena
- Dipartimento Scienze Farmaceutiche, Università degli Studi di Perugia

## VENETO

- Dip. 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
- Dip. di Scienze Morfologico-Biomediche, Sezione di Anatomia ed Istologia, 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
- Dip. di Patologia e Diagnostica - Patologia Generale - Università degli Studi di 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
- Dip. Scienza e Tecnologia del Farmaco, Università degli Studi di 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
- Dip. di Medicina Molecolare, Università degli Studi di Padova
- Dip. di Informatica, Università degli Studi di Verona
- Dip. Medicina, Unità di Gastroenterologia, Università degli Studi di Verona
- Dip. Scienze Farmaceutiche e Farmacologiche, Università degli Studi di Padova
- Dip. Scienze Cardiologiche, Toraciche e Vascolari, Div. Chirurgia toracica, AOU Padova

## 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
- Lab. for Molecular Virology & Gene Therapy, Center for Molecular Medicine, Faculty of Medicine, KU Leuven

### 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, Universitäts Klinikum, Munster
- Molecular Mycobacteriology, Research Center Borstel
- Institute of Physiology I, Life & Brain Center, University of Bonn
- Department Pharmazie, Ludwig-Maximilians Universität, München

### IRELAND

- Queen's University Belfast, Respiratory Medicine Research Group, Belfast

### SWITZERLAND

- Dept. of Pediatrics, University Hospital and Faculty of Medicine, Geneva
- Polyphor Ltd, Switzerland, Geneva

### SPAIN

- Dep. Microbiology, University of Zaragoza

**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
- Dept. of Physiology, McGill University, Montreal, Quebec, 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
- Dept. 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

**RUSSIAN FEDERATION**

- Laboratory for Biomedical Chemistry, Federal Research Center, Moscow

## Appendix 3

# International Reviewers of FFC Ricerca Projects (2002-2021)

### ASIA

#### Hong Kong

Dennis Lo Yuk Ming

#### India

Vikas Gautam

Amit Misra

#### Israel

Batsheva Kerem

Orit Reish

Hanoch Senderowitz

Michael Wilschanski

#### Turchia

Duygu Gözen

#### Japan

Hiroshi Kubo

### AUSTRALIA

Scott Bell

Margaret Cooley

Martin Delatycki

Manohar Garg

Allan Glanville

Phil Hansbro

Ameneh Khatami

Anthony Kicic

Tim Kidd

John Massie

John Mattick

(Keith) Chee Ooi

Sarath Ranganathan

David Reid

Louis Rendina

Geraint Rogers

Tony Velkov

Shafagh Waters

Cynthia Withchurch

### CANADA

Diana Averill-Bates

Christine Bear

André Cantin

Tom Clandinin

Elizabeth Cowley

Lori Burrows

Peter Durie

Tanja Gonska

Hartmut Grasemann

Bob Hancock

Yeger Herman

Susan Koval

Sheila Innis

Roger Levesque

Paul Linsdell

Gergerly Lukacs

Tong-jun Lin

George A Mackie

François Malouin

Liu Mingyao

Robert Newton

Michael Parkins

Grace Parraga

Paul Pencharz

Martin Post

Danuta Radzioch

Felix Ratjen

Andrew Sandford

Molly Schmid

Aaron Shawn

Christopher Sibley

Pamela Sokol

David Speert

Michael G Surette

Miguel Valvano

Valerie Waters

Michael Wheeler

Herman Yeger

Jason C. Young

Julian Zielensky

### EUROPE

#### Austria

Thomas Eiwegger

Peter Jacksch

Robert Knobler

#### Belgium

Karim Amighi

Gilles Brackman

Jean Jacques Cassiman

Tom Coenye

Pierre Cornelis

Aurélie Crabbé

Harry Cuppens

Christiane De Boeck

Ingeborg Liebaers

Savvas Savvides

Peter Vandamme

François Vermeulen

#### Czech Republic

Jan Krejsek

#### Denmark

Thomas Bjarnsholt

Oana Ciofu

Niels Høiby

Christian Koch

Marie Johannesson

Jette Elisabeth Kristiansen

Søren Molin

Peter E. Nielsen

#### France

Emmanuel Andres

Frederic Becq

Frank Brouillard

Mireille Claustres

Christelle Coraux

Laurent Debarbieux

Laurence Delhaes

Isabelle Durieu

Alexander Edelman

Brigitte Fauroux

Claude Ferec

Chantal Gauthier

Emanuelle Girodon

Vincent Goffin

Aurélie Goyenvallé

Genevieve Hery Arnaud

Jacky Jaquot

Eric Kipnis

Laurent Kremer

Jean Paul Latgé

Frederic Laurent

Fabien Lecaille

Patricia Lemarchand

Christine Linard

Olivier Mignen

Anne Munck

Patrizia Paterlini-Brèchot

Jean-Marc Rolain

Marie Catherine Romey

Juliet Royet

Magali Taulan-Cadars

Isabelle Sermet

Virginie Scotet

Olivier Tabary

Lhousseine Touqui

Pascal Trouvè

Clarisse Vandebrouck

Guillaume Van Niel

#### Germany

Robert Bals

Wolfgang H. Binder

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

Markus Sperandio

Stefan Stamm

Megan Stanifer

Gratiana Steinkamp

Burkhard Tuemmler

Martin Ulrich

Christiane Wolz

#### Greece

George Makrydimas

#### Ireland

Judith Coppinger

Colum Dunne

Elena Fernandez Fernandez

Catherine Greene

Brian Harvey

Siobhán McClean

Irene Oglesby

Cian O'Leary

Emer Reeves

#### Italy

Guido Antonelli

Tiziano Bandiera

Giovanna Batoni

Flavia Bazzoni

Alessandra Bragonzi

Carlo Castellani

Paola Catastini

Antonio De Flora

Lucia De Franceschi

Fabrizio De Ponti

Luis Juan Vicente Galiotta

Silvio Garattini

Marco Lucarelli

Giancarlo Mansueto

Giuseppe Magazzù

Sara Montagnese

Oscar Moran

Nicoletta Pedemonte

Marco Trabucchi

#### Portugal

Margarida Amaral

Jorge Leitão

Raquel Sabino

#### Spain

Raquel Barrio

Jaume Bertranpetit

Ana Bustamante-Aragones

Rafael Cantón

Xavier Estivill

Gertrudis Horna

Pedro Mondejar-Lopez

Guillermo Mtz. de Tejada

de Garaizábal

Francisco Sanchez Madrid

#### Sweden

Gunnar C. Hansson

Ute Romling

Birgitta Strandvik

Craig Wheelock

Peter Zygmunt

#### Switzerland

Leo Eberl

Lukas Ebner

Dieter Haas

Hans Peter Fisher

Adin Ross-Gillespie

Bernard Rossier

Peter Sander

#### The Netherlands

Jeffrey Beekman

Touw Daan

Hugo De Jonge

Peter Klijn

Lidewij Henneman

Harry Heijerman

Erik Hulzebos

Peter JFM Merkus

Charlotte Robroeks

Bob Scholte

Harm Tiddens

Bernt Van Der Blink

Kors van der Ent

#### U.K. - Northern Ireland

U.K. – Northern Ireland

Matthew Avison

Maria G. Belvisi

Charlotte Billington

James Birchall

Marina Botto

Malcolm Brodlie

Alan Brown

Alan R. Cowley

Andrew Bush

Philip Calder

Steven Conway

Alan R. Cowley

Ruxandra Dafinca

Jane Davies

Louise Donnelly

Robert Dormer

Alistair Duff

Stuart Elborn

Madeleine Ennis

Glenda Esmond

Thomas Evans

Alain Filloux

Andres Floto

Paul Foster

Jo Fothergill

Peter Gahan

Erol Gaillard

Claire Glasscoe

John Govan

Michael Gray  
Robert Gray  
Andrew Greening  
Uta Griesenbach  
Katjia Hill  
Alexander Horsley  
Eshwar Mahenthalingam  
Anil Mehta  
Maurice Hallett  
Andrew Jones  
Julian Parkhill  
Mauro Perretti  
Tyrone Pitt  
Daniela Riccardi  
Geraint Rogers  
Martin Savage  
David Sheppard  
Nicholas Simmonds  
David Smith  
Liz Sockett  
Kevin Southern  
Maurice Super  
Hui-leng Tan  
Tunney Michael  
Sabeel Valappil  
Ludovic Vallier  
Paola Vergani  
Rebecca Weiser  
John Widdicombe  
Craig Winstanley

#### **Ungary**

Mónika Homa

#### **MEXICO**

Paul Sujay

#### **SOUTH AMERICA**

##### **Brazil**

Margaret Cristina da Silva  
Boguszewski  
Veralice Meireles Sales  
de Bruin  
Mauro M. Teixeira

##### **Costa Rica**

Arturo Solis

##### **Venezuela**

Juan Bautista De Sanctis

#### **U.S.A.**

##### **Alabama**

Bakhrom K. Berdiev  
David Bedwell  
John Paul Clancy  
Jennifer Guimbellot  
Kim Keeling  
Sadis Matalon  
Lisa Schwiebert  
Robert Wang

##### **California**

Myriam Amsallem  
William Balch  
Annelise Barron  
Carroll Cross  
Beate Illek  
Ryan Hunter  
Ronald Kopito  
Klaus Ley  
Terry Machen  
Richard Moss  
Malla M. Reddy  
Matthew Porteus

Evan Powers  
Paul Quinton  
Minnie Sarwal  
David A. Stevens  
Charles M. Strom  
Alan Verkman  
Jeffrey Wine

##### **Colorado**

Frank Accurso  
Charles L. Daley  
Brian Day  
Brian Doctor  
Jonathan Harris  
Stacey Martiniano  
Jerry A. Nick  
Scott Sagel  
Herbert Schweizer  
Jeff Wagener  
Marty Zamora

##### **Connecticut**

Nadia Ameen  
Marie E. Egan  
Peter Glazer  
Diane Krause  
Joseph L. Kuti  
Curt Scharfe  
Li Tianbo

##### **Florida**

Alexander Cole  
Alexandra Quittner

##### **Georgia**

Scott Grosse  
Rabindra M. Tirouvanziam

##### **Illinois**

John Christman  
Ann Harris  
Anver Kuliev  
Ajay Rana  
Le Shen  
Lee Shulman  
Jerold Turner

##### **Indiana**

Crislyn D'Souza-Schorey  
Roman Dziarski  
Won Kyoo Cho  
Irina Petrache

##### **Iowa**

Xiaopeng Li  
Dwight C. Look  
Jonathan Paul M Mochel  
Patrick Sinn  
Ziyang Yan  
Joseph Zabner

##### **Kansas**

John Gatti

##### **Kentucky**

Stefan Stamm  
Jay Zwischenberger  
Joseph Zwischenberger

##### **Louisiana**

Jay K. Kolls  
Guoshun Wang

##### **Maine**

Robert Owens

##### **Maryland**

Biswas Roopa  
Gary Cutting  
Robert K. Ernst  
William Guggino  
Andy Kilianski  
Samuel Lai  
Gary Mansfield

Christian Merlo  
Peter Mogayzel  
Amanda Oglesby-Sherrouse  
Kenneth N. Olivier  
Jonathan Orens  
Harvey Pollard  
Keith J. Slifer  
Neeraj Vij  
Jerry Wright  
Pamela Zeitlin

##### **Massachusetts**

Martin Joyce-Brady  
Terence Flotte  
Steven Freedman  
Bryan Hurley  
Allan Jacobson  
Robert Kolter  
John Ladias  
Bruce Levy  
Stephen Lory  
Hongmei Mou  
Gerald Pier  
Stefan Rytter  
Gregory Sawiki  
Charles Serhan  
Susan Slaughaupt

##### **Michigan**

Daniel Klionsky  
John Li Puma  
Mary O'Riodan  
Kathleen Stringer

##### **Minnesota**

Robert C. Huebert  
Mark Kurth  
Antoinette Moran

##### **Missouri**

Carolyn Cannon  
Thalachallour Mohanakumar  
Stuart Sweet

##### **Nebraska**

Bradley Britigan  
Channabasavaiah Gurumurthy  
Thalachallour Mohanakumar

##### **New Hampshire**

Dean Madden  
George A. O'Toole

##### **New York**

Isabel Aznarez  
Nazzareno Ballatori  
Jue Chen  
Ville Friman  
David Goldfarb  
Cole Haynes  
Alice Prince  
Lisa Saiman  
Patricia Sime  
Stefan Worgall  
Tilla S. Worgall

##### **North Carolina**

Adler Kenneth B.  
Robert Aris  
Michael Boyle  
Douglas Cyr  
Charles Esther  
Martina Gentzsch  
Andrew Ghio  
Mehmet Kesimer  
Michael Knowles  
Alessandra Livraghi-Butico  
Marianne Muhlebach  
John Riordan  
Gabriel Sherif

Robert Tarran

##### **Ohio**

Amal Amer  
Melvin Berger  
Maria Britto  
James Chmiel  
Mitchell Drumm  
Dana S. Hardin  
Ann Harris  
Daniel Hassett  
Scott Herness  
Craig Hodges  
Lloyd Horrocks  
Valerie Hudson  
Christopher Karp  
Thomas J. Kelley  
Michael Konstan  
Benjamin Kopp  
Sanjay Rajagopalan  
Adriano Tonelli  
Haitao Wen  
Daniel Woźniak

##### **Oregon**

David C. Dawson  
Bruce L. Geller  
Xuehong Liu

##### **Pennsylvania**

Jennifer Bomberger  
Robert Bucki  
Rebekah Marie Dedrick  
Raymond Frizzell  
David Orenstein  
Keven Mara Robinson  
Ronald Rubenstein  
Douglas Wilson

##### **South Carolina**

Patrick Flume

##### **Tennessee**

John Christman  
Michael Laposata  
Vasiliy V. Polosukhin

##### **Texas**

Carolyn Cannon  
Brian R Davis  
Tawanda Gumbo  
Raksha Jain  
Sunhee Lee  
Sergey Shevkopyas  
Philip Thomas

##### **Utah**

Valerie Hudson  
Guy Zimmerman

##### **Vermont**

Daniel J. Weiss

##### **Virginia**

Joanna Goldberg  
Dennis E. Ohman  
Bruce Rubin

##### **Washington**

Maira Aitken  
Jane Burns  
Chris Goss  
E. Peter Greenberg  
Lucas Hoffmann  
Samuel I. Miller  
Matt Parsek  
Margaret Rosenfeld  
Sina Tavakoli

##### **Wisconsin**

Philip Farrel  
Krishanu Saha  
Don Sanders

### **Acknowledgment**

*The Italian Cystic Fibrosis Research Foundation (FFC Ricerca) 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 Ricerca Projects (2019 -2021) adopted by Supporters

#### Progetti FFC Ricerca (2019-2021) adottati da Sostenitori FFC

■ **Progetto strategico FFC/TCFC - Task Force for Cystic Fibrosis**  
Responsabile: **Luis Galletta** (Lab. Genetica Molecolare, Istituto G. Gaslini, Genova)

Finanziamento complessivo: € 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), **evento "Uno swing per la ricerca" promosso dalla Delegazione FFC di Villa d'Almè** (€ 24.600), **quota parziale Cinque per mille 2014** (€ 130.000), **Bike Tour 2016** (€ 55.000), **eventi "La notte dei sapori 2" e "FFC Golf Cup 2016"** (€ 20.000), **Gruppo Aziende Nordest, Delegazioni FFC di Vicenza e di Verona Val d'Alpone** (€ 15.000), **Numero Solidale Natale 2016** (€ 17.151), **Campagna di Natale FFC 2016** (€ 50.000), **Saint Gobain** (€ 8.000), **SLF Abrasivi srl** (€ 10.000), **Famiglia per la ricerca** (€ 30.000), **"Amici per la ricerca" Bassano del Grappa** (€ 27.000), **Loifur** (€ 10.000), **Mevis spa** (€ 10.000), **Amici della ricerca di Milano** (€ 12.000), **Evento "Dai respiro alla Ricerca", Delegazione FFC di Palermo** (€ 20.000), **Fondazione Mediolanum** (€ 40.900), **Evento "Guardare lontano", Delegazione FFC di Milano** (€ 15.000), **Project Hope Rosa Pastena** (€ 21.000), **Lega Italiana Fibrosi Cistica di Messina - Dinner Claudio Miceli** (€ 23.000), **#CorrerePerUnRespiro** (€ 15.000), **Imprese straordinarie - Milano per la Ricerca** (€ 17.000), **Trofeo Neurone** (€ 16.500)

Extension e fase preclinica

Responsabile: **Tiziano Bandiera** (Dip.to Drug Discovery, Istituto Italiano Tecnologia, IIT, Genova)

Partner: **Nicoletta Pedemonte** (Lab. Genetica Molecolare, Istituto G. Gaslini, Genova); Principale consulente esterno: **Luis Galletta** (Telethon Institute of Genetics and Medicine - TIGEM, Napoli)

Finanziamento: € 2.000.000. Adottato parzialmente da: **Evento "Marafibrositona 2017" promosso dalla Delegazione FFC di Como Dongo** (€ 56.000), **Il cuore degli amici di Bergamo** (€ 40.000), **Piazzalunga srl** (€ 10.000), **Quota parziale Cinque per mille redditi 2016** (€ 146.400), **Dondup** (€ 10.000), **Fondazione Bruno Maria Zaini** (€ 35.000), **Marcella e Lorenzo Turazza** (€ 22.000), **Donazioni Campagna di Pasqua 2017 finalizzate Task Force** (€ 50.000), **"Dai energia alla ricerca"** (€ 100.000), **Lascito Famiglia Scarpa** (€ 20.000), **Evento "Insieme per donarti un respiro" 4ª ed. promosso dalla Delegazione FFC di Vittoria Ragusa** (€ 10.000), **Evento "Artisti per un respiro" 4ª ed. promosso dalla Delegazione FFC di Catania Mascalucia** (€ 10.000), **"Alla ricerca di un sorriso 6" promosso da Gruppo di Sostegno FFC di Seregno** (€ 25.000), **SEI Toscana** (€ 12.000), **Saint Gobain** (€ 10.000), **Amici per la Ricerca di Bassano** (€ 31.500), **Loifur** (€ 20.000), **Latteria Montello** (€ 15.000), **Ma.Gia srl** (€ 10.000), **Progetto "Tredici/43" promosso dalla Delegazione FFC di Vicenza** (€ 50.000), **Proventi libro "Smeraldi a colazione" - 2017** (€ 20.000), **#CorrerePerUnRespiro 2018** (€ 20.000), **Metropole** (€ 21.000), **Famiglia Calabrese De Feo** (€ 20.000), **Bike Tour FFC 2017** (€ 47.000), **Sfogliata Torino srl** (€ 20.000), **Evento "Verdi legge Verdi", omaggio a Marta Marzotto** (€ 11.000), **Amici della ricerca di Milano** (€ 20.000), **"In ricordo di Dani Copes". Raccolta fondi promossa dall'Associazione Trentina Fibrosi Cistica - Onlus** (€ 10.000), **Quota parziale Campagna Nazionale FFC 2017** (€ 50.000), **Numero Solidale 2017** (€ 17.471), **Quota par-**

**ziale Campagna di Natale FFC 2017** (€ 100.000), **"La Camminata del Respiro" e altri eventi promossi dalla Delegazione Sondrio Valchiavenna** (€ 30.000), **Quota parziale Campagna di Pasqua FFC 2018** (€ 25.000); **"Project Hope - Rosa Pastena"** (€ 35.000), **Wind Tre in ricordo di Francesca Cascone** (€ 10.000), **Quota parziale "Marafibrositona 2018" promosso dalla Delegazione FFC di Como Dongo** (€ 63.200), **Quota parziale Campagna Nazionale FFC 2018** (€ 50.000), **Bike Tour FFC 2018** (€ 50.000), **Numero Solidale 2018** (€ 12.370), **"Together for life"** (€ 91.000), **Asta UK-Italy Business Boost 2018** (€ 31.300), **Castelli 24 H Feltre 2018** (€ 8.250), **"Un calcio ai 60"** (€ 11.300), **Amici della ricerca Bassano 2018** (€ 24.000), **Brandart** (€ 10.000), **Bricoman** (€ 15.000), **Quota parziale Campagna di Pasqua FFC 2019** (€ 25.000), **Quota parziale "Marafibrositona 2019" promossa dalla Delegazione FFC di Como Dongo** (€ 100.000), **"Aziende per Task Force", raccolta promossa da Delegazione FFC di Verona Val d'Alpone** (€ 20.000), **Lega Italiana Fibrosi Cistica di Messina - Fund Raising Dinner Claudio Miceli** (€ 15.000), **Fibrosirun 2019** (€ 21.000), **Guadagnin Srl** (€ 10.000), **Evento "Un respiro sotto le stelle" promosso dal Gruppo di sostegno FFC di Crevalcore Bologna** (€ 12.000), **"In onore di Angelica"** (€ 50.000), **Evento "Dai respiro alla ricerca 2019" promosso dalla Delegazione FFC di Palermo** (€ 11.000), **Insieme per Franci** (€ 10.000), **Crédit Agricole** (€ 15.000)

■ **Progetto strategico FFC Ricerca 2021-2023. 1 su 30 e non lo sai.**

**Una piattaforma per conoscere meglio il significato del test del portatore sano di fibrosi cistica**

Responsabile: **Carlo Castellani** (Centro Fibrosi Cistica, Istituto Giannina Gaslini)

Finanziamento: € 169.826. Adottato da: **Delegazione FFC Ricerca di Milano** (€ 100.000). Adottabile per: € 69.826

■ **Progetto strategico FFC Ricerca 2021-2023. Molecole 3.0 per la fibrosi cistica.**

**Nuovi modulatori farmacologici per il recupero della proteina CFTR mutata**

Responsabile: **Paola Barraja** (STEBICEF - Laboratorio di sintesi degli eterocicli, Università di Palermo) - **Luis Galletta** (Istituto Telethon di Genetica e Medicina - TIGEM, Pozzuoli, Napoli)

Finanziamento: € 190.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Milano** (€ 100.000); **Rotary Club Verona Distretto 2060** (€ 28.000); **Delegazione FFC Ricerca del Lago di Garda** (€ 62.000)

■ **Progetto strategico FFC Ricerca 2021-2023. Effetto-Kaftrio nella malattia avanzata.**

**Studio di efficacia e sicurezza di Kaftrio nella vita reale di persone con FC in stadio avanzato**

Responsabile: **Cesare Braggion** (Direzione Scientifica, Area Ricerca Clinica FFC Ricerca)

Ricercatore principale: **Sonia Volpi** (Centro Regionale Veneto Fibrosi Cistica, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona)

Finanziamento: € 98.136. Adottato totalmente da: **Fondazione UniCredit** (€ 25.000); **Delegazione FFC Ricerca di Vicenza** (€ 73.136)

■ **FFC#1/2019**

**Scoprire nuovi bersagli intracellulari per il trattamento farmacologico di CFTR-F508del**

Responsabile: **Andrea Armirotti** (Istituto Italiano di Tecnologia, Chimica Analitica e Farmacologia in vivo - Genova)

Finanziamento: € 55.000. Adottato totalmente da: **Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Nichelino**; (€ 20.000); **Delegazione FFC Ricerca di Prato** (€ 8.000); **Delegazione FFC Ricerca di Rovigo** (€ 19.000); **Amici della Ritty** (€ 8.000)

#### ■ FFC#2/2019

**Correlare muco-microbiota-genotipo per definire nuovi modelli animali di fibrosi cistica**

Responsabile: **Alessandra Bragonzi** (Unità Infezioni e Fibrosi cistica, Divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie Infettive, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano)

Finanziamento: € 120.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Pavia** (€ 20.000); **Delegazione FFC Ricerca di Bergamo Villa D'Almè** (€ 10.000); **Delegazione FFC Ricerca di Bovolone** (€ 8.000); **Delegazione FFC Ricerca di Brindisi Torre** (€ 20.000); **Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Altamura Bari** (€ 8.000); **"Un fiore per Valeria" Assemini - Cagliari** (€ 8.000); **Delegazione FFC Ricerca di Morbegno** (€ 34.000)

#### ■ FFC#3/2019

**Sfruttare la tecnologia CRISPR/Cas9 per neutralizzare il difetto CFTR-F508del**

Responsabile: **Anna Cereseto** (Università di Trento, CIBIO-Laboratorio di Virologia Molecolare)

Finanziamento: € 120.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Vercelli** (€ 30.000); **Delegazione FFC Ricerca di Verona Val d'Alpone** (€ 60.000); **Associazione Trentina Fibrosi Cistica in ricordo di Marco Menegus** (€ 20.000); **Delegazione FFC Ricerca di Olbia** (€ 10.000).

#### ■ FFC#4/2019

**Ripristino della proteostasi difettiva in fibrosi cistica: nuove strategie per il recupero di CFTR-F508del**

Responsabile: **Giorgio Cozza** (Università di Padova, Dip. di Medicina Molecolare, Sez. Chimica Biologica)

Finanziamento: € 95.000. Adottato totalmente da: **Lega Italiana Fibrosi Cistica** (€ 10.000); **Delegazione FFC Ricerca di Lucca** (€ 20.000); **Delegazione FFC Ricerca di Manciano Grosseto** (€ 12.000); **Delegazione FFC Ricerca di Cecina** (€ 35.000); **Delegazione FFC Ricerca di Taranto Massafra** (€ 18.000)

#### ■ FFC#5/2019

**Utilizzo di piccole molecole che modulano lo *splicing* di CFTR come nuovi farmaci amplificatori**

Responsabile: **Stefano Duga** (Università Humanitas, Genetica Medica e Biologia dell'RNA, Rozzano, Milano)

Finanziamento: € 60.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Acqui Terme in memoria di Maurizio Zunino ed Emilia Mela** (€ 25.000); **Delegazione FFC Ricerca di Boschi Sant'Anna Minerbe "Alla fine esce sempre il sole"** (€ 35.000)

#### ■ FFC#6/2019

**Identificazione di deubiquitinasi e ubiquitina-ligasi che influenzano la correzione della proteina CFTR mutata**

Responsabile: **Luis Galletta** (Istituto Telethon di Genetica e Medicina - TIGEM, Pozzuoli, Napoli)

Finanziamento: € 120.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Alba Cuneo**

#### ■ FFC#7/2019

**Il segnale transmembrana di regolazione della proteostasi e della infiammazione come bersaglio farmacologico per la correzione della proteina CFTR difettosa nella fibrosi cistica**

Responsabile: **Alberto Luini** (Istituto di Biochimica delle Proteine, Dip. Scienze Biomediche CNR, Napoli)

Finanziamento: € 60.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Palermo**

#### ■ FFC#8/2019

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

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

Finanziamento: € 105.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Imola e Romagna con Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Faenza**

#### ■ FFC#9/2019

**Mutazioni orfane presenti nei pazienti italiani con FC: caratterizzazione della risposta ai modulatori di CFTR e saggio della risposta agli inibitori di RNF5**

Responsabile: **Nicoletta Pedemonte** (IRCCS Istituto Giannina Gaslini, UOC Genetica Medica, Genova)

Finanziamento: € 120.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Genova con Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Savona Spotorno** (€ 70.000); **Delegazione FFC Ricerca di Valle Scrivia Alessandria** (€ 16.000); **Delegazione FFC Ricerca di Montescaglioso** (€ 8.000); **Delegazione FFC Ricerca di Ascoli Piceno** (€ 26.000)

#### ■ FFC#10/2019

**Riposizionamento di farmaci, studi computazionali, risonanza plasmonica di superficie e saggi biologici con culture cellulari: un approccio multidisciplinare per l'identificazione di nuovi farmaci ad azione correttiva su CFTR**

Responsabile: **Marco Rusnati** (Dip. Medicina Molecolare e Trasazionale Sez. di Oncologia e Immunologia, Università di Brescia)

Finanziamento: € 36.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Vittoria Ragusa e Siracusa con Delegazione FFC Ricerca di Catania Mascalucia**

#### ■ FFC#11/2019

**Ruolo di modifiche post-traduzionali nel recupero funzionale di CFTR-F508del**

Responsabile: **Mauro Salvi** (Università di Padova, Dipartimento di Scienze Biomediche)

Finanziamento: € 40.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Fabriano Ancona con il Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Umbertide Città di Castello Perugia**

#### ■ FFC#12/2019

**Approccio proteomico per l'identificazione di nuovi biomarkers leucocitari correlati al recupero di funzionalità del canale CFTR dopo trattamento *ex vivo* con il potenziatore VX-770**

Responsabile: **Monica Averna** (Università di Genova, Dipartimento di Medicina Sperimentale)

Finanziamento: € 50.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Torino**

#### ■ FFC#13/2019

**Attivazione integrinica monocitaria come test di monitoraggio di farmaci per fibrosi cistica**

Responsabile: **Carlo Laudanna** (Università di Verona, Dipartimento di Medicina, Sez. Patologia Generale)

Finanziamento: € 60.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca della Valpolicella**

#### ■ FFC#14/2019

**Studio dell'interazione tra epitelio e stroma in un modello 3D di FC su chip per la valutazione di nuove strategie terapeutiche**

Responsabile: **Paolo Netti** (Istituto Italiano di Tecnologia, Centro di Ricerca Interdipartimentale sui Biomateriali, Università di Napoli)

Finanziamento: € 120.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Napoli** (€ 50.000); **Delegazione FFC Ricerca di Alberobello** (€ 40.000); **Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Crotone "Vita in te ci credo"** (€ 20.000); **Delegazione FFC di Roma Monterotondo con Delegazione FFC Ricerca di Roma Vaticano** (€ 10.000)



■ **FFC#15/2019**

**Inibizione farmacologica della resistenza alla colistina nei patogeni Gram-negativi della fibrosi cistica**

Responsabile: **Fiorentina Ascenzioni** (Dip. Biologia e Biotecnologie C. Darwin, Università La Sapienza, Roma)

Finanziamento: € 65.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Tradate Gallarate**

■ **FFC#16/2019**

**Lotta contro le forme persistenti di *Pseudomonas aeruginosa* nell'infezione polmonare FC: miglioramento delle tecniche diagnostiche e delle strategie terapeutiche**

Responsabile: **Francesca Biavasco** (Dip. Scienze Ambientali e della Vita, Università Politecnica delle Marche, Ancona)

Finanziamento: € 35.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Treviso Montebelluna**

■ **FFC#17/2019**

**Studio preclinico *in vitro* e *in vivo* di un approccio immunoterapeutico basato su liposomi bioattivi per il controllo dell'infezione causata da *Mycobacterium abscessus***

Responsabile: **Daniela Maria Cirillo** (Fondazione Centro San Raffaele, Divisione di immunologia Unità patogeni batterici emergenti, Milano)

Finanziamento: € 60.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Palermo**

■ **FFC#18/2019**

**Studio della patogenicità e del ruolo clinico di *Achromobacter xylosoxidans* nell'infezione polmonare in fibrosi cistica**

Responsabile: **Maria M. Lleò** (Dip. Diagnostica e Sanità Pubblica, Università di Verona)

Finanziamento: € 80.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Novara** (€ 10.000); **Delegazione FFC Ricerca di Messina** (€ 10.000); **Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Seregno** (€ 8.000); **Delegazione FFC Ricerca di Lodi** (€ 8.000); **Gruppo di sostegno FFC Ricerca di San Giovanni Rotondo** (€ 20.000); **Delegazione FFC Ricerca di Foggia** (€ 8.000); **Delegazione FFC Ricerca di Olbia** (€ 16.000)

■ **FFC#19/2019**

**Il gallio come agente antibatterico in fibrosi cistica: studi su modelli animali per il trasferimento di nuove formulazioni inalabili in clinica**

Responsabile: **Paolo Visca** (Dipartimento di Scienze, Unità Microbiologia, Università Roma Tre)

Finanziamento: € 120.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Franciacorta**

■ **FFC#20/2019**

**Studio di trattamenti antiinfiammatori per la patologia polmonare FC in modelli murini di infezione delle vie aeree: approfondimenti sull'effetto antiinfiammatorio del betasitosterolo e sull'attività antiinfiammatoria/antinfettiva di L-miglustat**

Responsabile: **Antia Cristina Dehecchi** (Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona, Laboratorio di Patologia Molecolare-Laboratorio Analisi)

Finanziamento: € 65.000. Adottato totalmente da: **Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Melilli** (€ 10.000); **Delegazione FFC Ricerca di Pesaro con Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Rivarolo Canavese e Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Parma Fidenza** (€ 45.000); **Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Tremestieri** (€ 10.000)

■ **FFC#21/2019**

**Studio preclinico di una strategia terapeutica combinata basata su liposomi bioattivi e batteriofagi contro le infezioni causate da *Mycobacterium abscessus***

Responsabile: **Maurizio Fraziano** (Dip. Biologia, Università Tor Vergata, Roma)

Finanziamento: € 120.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca del Lago di Garda**

■ **FFC#22/2019**

**Valutazione multitasking di analoghi della TMA come agenti antiinfiammatori per il trattamento della fibrosi cistica**

Responsabile: **Ilaria Lampronti** (Dip. Scienze della vita e biotecnologie, Sez. biochimica e biologia molecolare, Università di Ferrara)

Finanziamento: € 60.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Bologna** (€ 45.000); **Delegazione FFC Ricerca di Ferrara** (€ 15.000)

■ **FFC#23/2019**

**Azione potenziale dei batteriofagi come immunomodulatori nella fibrosi cistica**

Responsabile: **Anna Silvia Pistocchi** (Dip. Biotecnologie Mediche e Medicina Traslazionale, Università degli Studi di Milano)

Finanziamento: € 18.000. Adottato totalmente da: **Associazioni Un Respiro in più Onlus con La mano tesa onlus**

■ **FFC#24/2019**

**Alterazioni precoci della tolleranza al glucosio in fibrosi cistica: effetti dei modulatori di CFTR**

Responsabile: **Alberto Battezzati** (Centro Internazionale per lo Studio della Composizione Corporea, DeFENS, Università di Milano)

Finanziamento: € 120.000. Adottato totalmente da: **Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Milano Magenta** (€ 10.000); **Delegazione FFC Ricerca di Reggello** (€ 25.000); **Delegazione FFC Ricerca di Sondrio Valchiavenna** (€ 30.000); **Delegazione FFC Ricerca di Roma Pomezia** (€ 20.000); **Delegazione FFC Ricerca di Cerea** (€ 12.000); **Matilde e Paola per Elsa** (€ 10.000); **Delegazione FFC Ricerca di Lecce** (€ 13.000)

■ **FFC#25/2019**

**Il coinvolgimento attivo nel programma di cura del paziente con fibrosi cistica: uno studio trasversale con le diverse parti interessate**

Responsabile: **Rosaria Casciaro** (IRCCS Istituto Giannina Gaslini, Centro Fibrosi Cistica, Genova)

Finanziamento: € 36.000. Adottato totalmente da: **Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Genova "Mamme per la ricerca"**

■ **FFC#26/2019**

**Standardizzazione di un protocollo di *imaging* con risonanza magnetica (MRI) per lo studio di ventilazione, infiammazione, perfusione e struttura al fine di migliorare il monitoraggio della patologia polmonare FC**

Responsabile: **Giovanni Morana** (Ospedale Ca' Foncello, Dip. Radiologia Diagnostica e Interventistica, Treviso)

Finanziamento: € 75.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Vittoria Ragusa e Siracusa con Delegazione FFC Ricerca di Catania Mascalucia**

■ **FFC#27/2019**

**Disfunzione del ventricolo destro in pazienti con fibrosi cistica sottoposti a trapianto di polmoni**

Responsabile: **Vittorio Scaravilli** (Fondazione IRCCS Ca' Granda - Ospedale Maggiore Policlinico Milano, Dipartimento Anestesia, Rianimazione ed Emergenza)

Finanziamento: € 85.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Napoli** (€ 20.000); **Delegazione FFC Ricerca di Como Dongo** (€ 65.000)

■ **FFC#1/2020**

**Acidi nucleici peptidici come potenziali amplificatori di CFTR per il trattamento della fibrosi cistica**

Responsabile: **Felice Amato** (Centro CEINGE-Biotecnologie Avanzate, Napoli, Lab. di Ricerca in fibrosi cistica)

Finanziamento: € 85.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Bologna**

■ **FFC#2/2020**

**Strategie terapeutiche basate sui lipidi per ottimizzare l'efficacia dei farmaci innovativi per la cura della fibrosi cistica**

Responsabile: **Massimo Aureli** (Università di Milano, Dip. Biotecnologie Mediche e Medicina Traslazionale)  
Finanziamento: € 87.000. Adottato totalmente da: **Associazione Trentina Fibrosi Cistica ODV dedicato a Carmen Peterlana Cainelli** (€ 20.000); **Delegazione FFC Ricerca di Vercelli** (€ 20.000); **Delegazione FFC Ricerca di Vigevano** (€ 47.000)

#### ■ FFC#3/2020

**Piccole strutture eterocicliche come correttori della proteina CFTR mutata in fibrosi cistica**

Responsabile: **Paola Barraja** (STEBICEF - Lab. di Sintesi degli eterocicli, Università di Palermo)  
Finanziamento: € 92.000  
Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Tradate Gallarate** (€ 50.000); **Fondazione Corrado e Bruno Maria Zaini** (€ 42.000)

#### ■ FFC#4/2020

**Caratterizzazione del meccanismo di azione di modulatori di CFTR attraverso una tecnica di marcatura indotta da fotoattivazione**

Responsabile: **Fabio Bertozzi** (Fondazione Istituto Italiano di Tecnologia, IIT - D3- Chimica Farmaceutica)  
Finanziamento: € 75.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Vicenza**

#### ■ FFC#5/2020

**Organoidi intestinali per la valutazione e la correzione farmacologica di anomalie nel trasporto di fluidi e correnti anioniche in pazienti affetti da pancreatite**

Responsabile: **Luca Frulloni** (Università degli Studi di Verona, Dip. di Medicina, Div. Gastroenterologia)  
Finanziamento: € 43.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Vittoria Ragusa e Siracusa** (€ 21.500); **Delegazione FFC Ricerca di Catania Mascalucia** (€ 21.500)

#### ■ FFC#6/2020

**Valutazione della distribuzione e dell'attività di nuove molecole ad azione *readthrough* nel modello di topo e in altri sistemi di modello FC**

Responsabile: **Laura Lentini** (Università degli Studi di Palermo, STEBICEF - Sez. di Biologia)  
Finanziamento: € 90.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Palermo**

#### ■ FFC#7/2020

**Ruolo di modifiche post-traduzionali nel recupero funzionale di F508del CFTR**

Responsabile: **Mauro Salvi** (Università degli Studi di Padova, Dip. di Scienze Biomediche)  
Finanziamento: € 40.000  
Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Boschi Sant'Anna Minerbe "Alla fine esce sempre il sole"**

#### ■ FFC#8/2020

**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 (*therotyping*) e ripristino della funzione del CFTR mediante approcci di modificazione genica**

Responsabile: **Adriana Eramo** (Istituto Superiore di Sanità, Dip. di Oncologia e Medicina Molecolare)  
Finanziamento: € 37.000  
Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Lecce** (€ 15.000); **Delegazione FFC Ricerca di Napoli** (€ 10.000); **Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Campiglione Fenile** (€ 12.000)

#### ■ FFC#9/2020

**Proposte terapeutiche basate sulla risposta al trattamento in laboratorio di mutazioni rare con farmaci modulatori di CFTR**

Responsabile: **Paola Melotti** (Centro Fibrosi Cistica, AOUI Verona)

Finanziamento: € 87.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Pesaro, Delegazione FFC Ricerca di Rivarolo Canavese e Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Fidenza**

#### ■ FFC#10/2020

**La regolazione della virulenza e dell'antibiotico resistenza mediata da piccoli RNA come bersaglio per lo sviluppo di terapie non tradizionali contro *Pseudomonas aeruginosa***

Responsabile: **Giovanni Bertoni** (Università degli Studi di Milano, Dip. di Bioscienze)  
Finanziamento: € 37.000  
Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Firenze** (€ 21.000); **Delegazione FFC Ricerca di Prato** (€ 16.000)

#### ■ FFC#11/2020

**L'alterazione dei segnali del *quorum sensing* di *Pseudomonas aeruginosa* nei pazienti con fibrosi cistica quale nuova frontiera di terapia antimicrobica**

Responsabile: **Paola Brun** (Università degli Studi di Padova, Dip. di Medicina Molecolare)  
Finanziamento: € 50.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Como Dongo**

#### ■ FFC#12/2020

**Nuove combinazioni di farmaci contro le infezioni da micobatteri non tubercolari nella fibrosi cistica**

Responsabile: **Lanfranco Fattorini** (Istituto Superiore di Sanità, Roma, Dip. di Malattie Infettive)  
Finanziamento: € 52.000. Adottato totalmente da: **"In ricordo di Franco Miliotti"** (€ 20.000); **Delegazione FFC Ricerca di Como Dongo** (€ 32.000)

#### ■ FFC#13/2020

**Studio del potenziale antimicrobico di glicomimetici immunosaccaridici nel trattamento di infezioni polmonari da fibrosi cistica**

Responsabile: **Annalisa Guaragna** (Università degli Studi di Napoli Federico II, Dip. di Scienze Chimiche)  
Finanziamento: € 65.000. Adottato totalmente da: **Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Milano Magenta** (€ 10.000); **Delegazione FFC Ricerca di Treviso Montebelluna** (€ 20.000); **Delegazione FFC Ricerca di Imola Romagna** (€ 15.000); **Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Crotone "Vita in te ci credo"** (€ 8.000); **Delegazione FFC Ricerca di Monterotondo Roma** (€ 12.000)

#### ■ FFC#14/2020

**Nuove armi contro *Mycobacterium abscessus* e altri micobatteri non tubercolari**

Responsabile: **Maria Rosalia Pasca** (Università degli Studi di Padova, Dip. di Biologia e Biotecnologia Lazzaro Spallanzani)  
Finanziamento: € 57.000. Adottato da: **Smartform/Tattooform** (€ 15.000); **Guadagnin srl** (€ 8.000); **Delegazione FFC Ricerca di Belluno con i rocciatori di Fonzaso** (€ 34.000)

#### ■ FFC#15/2020

**Utilizzare la proteina STING come bersaglio specifico per combattere le infezioni batteriche nella fibrosi cistica**

Responsabile: **Mauro Piacentini** (Università di Roma Tor Vergata, Dip. di Biologia)  
Finanziamento: € 85.000. Adottato da: **Delegazione FFC Ricerca di Alberobello** (€ 20.000); **Delegazione FFC Ricerca della Valdadige** (€ 10.000); **Delegazione FFC Ricerca di Novara** (€ 8.000); **Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Codogno e Piacenza** (€ 8.000); **Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Casarile Milano** (€ 8.000); **Loifur** (€ 10.000); **"Project Hope - Rosa Pastena"** (€ 21.000)

#### ■ FFC#16/2020

**Bersaglio terapeutico combinato della sfingosina-1-fosfatilasi dell'ospite e del patogeno come strategia antimicrobica nella fibrosi cistica**

Responsabile: **Barbara Cellini** (Università degli Studi di Perugia, Dip. di Medicina Sperimentale)  
Finanziamento: € 55.000. Adottato da: **Delegazione FFC Ricerca di Sondrio Valchiavenna** (€ 40.000); **Latteria Montello** (€ 15.000)

#### ■ FFC#17/2020

**Piattaforme di veicolazione orale e polmonare per il riposizionamento di anakinra nella fibrosi cistica**

Responsabile: **Stefano Giovagnoli** (Università degli Studi di Perugia, Dip. di Scienze Farmaceutiche)

Finanziamento: € 85.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca della Franciacorta e Valle Camonica**

#### FFC#18/2020

**Combattere l'infiammazione cronica polmonare scatenata dalle cellule Th1/17 patogeniche attivate da *P. aeruginosa*: un nuovo approccio di medicina di precisione in fibrosi cistica**

Responsabile: **Moira Paroni** (Università degli Studi di Milano, Dip. di Bioscienze)

Finanziamento: € 85.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Sassari Castelsardo con Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Siniscola Nuoro**

#### ■ FFC#19/2020

**Terapie prorisolutive per la fibrosi cistica mediante resolvina D1 e nanotecnologie: studi preclinici per la consegna alla clinica di formulazioni innovative**

Responsabile: **Antonio Recchiuti** (Università G. d'Annunzio Chieti-Pescara, Dip. di Scienze Mediche, Orali e Biotecnologiche)

Finanziamento: € 55.000

Adottato totalmente da: **Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Crevalcore**

#### ■ FFC#20/2020

**L'inibizione selettiva di HDAC6 quale nuova strategia per combattere l'infiammazione e il rimodellamento fibrotico nella fibrosi cistica**

Responsabile: **Vincenzo Summa** (Università degli Studi di Napoli Federico II, Dip. di Farmacia)

Finanziamento: € 55.000. Adottato da: **Delegazione FFC Ricerca di Latina** (€ 16.000), **Quota residua Campagna di Natale FFC Ricerca 2020** (€ 39.000)

#### ■ FFC#21/2020

**Uso della risonanza magnetica multivolumetrica per studiare gli effetti della terapia con modulatori di CFTR**

Responsabile: **Andrea Aliverti** (Politecnico di Milano, Dip. di Elettronica, Informazione e Bioingegneria)

Finanziamento: € 30.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Roma**

#### ■ FFC#22/2020

**Ruolo delle forme batteriche vitali ma non coltivabili (VBNC) nei pazienti con fibrosi cistica dal punto di vista clinico**

Responsabile: **Natalia Cirilli** (Ospedali Riuniti, Dip. Materno Infantile, Centro FC, Ancona)

Finanziamento: € 70.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Ascoli Piceno** (€ 25.000); **Delegazione FFC Ricerca di Fabriano Ancona** (€ 25.000); **Delegazione FFC Ricerca di Umbertide Città di Castello** (€ 10.000); **Delegazione FFC Ricerca di Torino** (€ 10.000)

#### ■ FFC#23/2020

**Identificazione di nuovi marcatori biologici per la progressione della malattia polmonare indotta da *Mycobacterium abscessus* in fibrosi cistica**

Responsabile: **Nicola Ivan Lorè** (Università Vita-Salute, Ospedale San Raffaele, Div. di Immunologia, Trapianti e Malattie Infettive)

Finanziamento: € 88.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Milano** (€ 50.000), **Delegazione FFC Ricerca di Olbia** (€ 38.000)

#### ■ FFC#24/2020

**Cystic fibrosis screen positive inconclusive diagnosis (CFSPID): studio osservazionale multicentrico per valutare prevalenza, dati clinici, gestione ed esiti in 6 centri italiani di riferimento regionale**

Responsabile: **Vito Terlizzi** (Ospedale A. Meyer, Firenze, Centro Fibrosi Cistica)

Finanziamento: € 30.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Acqui Terme**

#### ■ FFC#1/2021

**Esplorazione multiomica del lipidoma dello epitelio bronchiale primario della FC e del suo ruolo nel recupero di CFTR**

Responsabile: **Andrea Armirotti** (Istituto Italiano di Tecnologia - IIT)

Finanziamento: € 130.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca Valle Scrivia Alessandria** (€ 12.000); **Gruppo di sostegno FFC Ricerca Genova "Mamme per la ricerca"** (€ 50.000); **Delegazione FFC Ricerca di Prato** (€ 15.000); **Delegazione FFC Ricerca di Reggello Firenze** (€ 15.000); **Associazione Correre a perdifiato** (€ 9.000); **Delegazione FFC Ricerca di Bergamo Villa d'Alme** (€ 29.000).

#### ■ FFC#2/2021

**Utilizzo di tecnologie CRISPR-Cas per revertire gli effetti delle mutazioni F508del e 2789+5G>A del gene CFTR**

Responsabile: **Anna Cereseto** (Università di Trento)

Finanziamento: € 103.450. Adottato totalmente da: **Evento "Together for Life" 2021**

#### ■ FFC#3/2021

**Verso lo sviluppo di terapie personalizzate per i pazienti FC con mutazioni di *gating* resistenti**

Responsabile: **Adriana Chilin** (Dip. di Scienze Farmaceutiche e Farmacologiche, Università di Padova)

Finanziamento: € 70.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Imola e Romagna**

#### ■ FFC#4/2021

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

Responsabile: **Giorgio Cozza** (Dip. di Medicina Molecolare, Università di Padova)

Finanziamento: € 104.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca della Franciacorta e Val Camonica**

#### ■ FFC#5/2021

**Valutazione *in vitro* di nuovi strumenti per la modifica (*editing*) sito-specifica di RNA messaggeri per proteina CFTR con mutazioni stop**

Responsabile: **Aldo Di Leonardo** (Dip. di Scienze e Tecnologie Biologiche Chimiche e Farmaceutiche - STEBICEF, Università degli Studi di Palermo)

Finanziamento: € 99.500. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Palermo e Trapani**

#### ■ FFC#6/2021

**Ottimizzazione della previsione delle risposte cliniche ai modulatori della CFTR utilizzando le cellule primarie nasali in condizioni che rispecchiano lo stato infiammatorio del paziente FC**

Responsabile: **Onofrio Laselva** (Dip. di Scienze Mediche e Chirurgiche, Università degli Studi di Foggia)

Finanziamento: € 130.000. Adottabile.

#### ■ FFC#9/2021

**Ottimizzazione di analoghi del MKT-077 come inibitori allosterici della HSP70 combinati con correttori CFTR F508del: un approccio multi-farmaco per contrastare la fibrosi cistica**

Responsabile: **Enrico Millo** (Dip. di Medicina Sperimentale - DIMES, Università degli Studi di Genova)

Finanziamento: € 102.000. Adottabile.

■ **FFC#11/2021**

**Studio dei bersagli alternativi per compensare la mancata funzione della proteina-canale CFTR**

Responsabile: **Paolo Scudieri** (Dip. di neuroscienze, riabilitazione, oftalmologia, genetica e scienze materno-infantili - DINOGMI, Università degli Studi di Genova)

Finanziamento: € 130.000. Adottabile.

■ **FFC#7/2021**

**Attivazione integrinica monocitaria come test di valutazione farmacologica in fibrosi cistica - ulteriore analisi**

Responsabile: **Carlo Laudanna** (Azienda Ospedaliera Università Integrita Verona)

Finanziamento: 69.850 €. Adottato da: **Delegazione FFC Ricerca di Verbania e V.C.O.** (€ 10.000). Adottabile per: € 59.850

■ **FFC#8/2021: Theratyping della fibrosi cistica**

Responsabile: **Marco Lucarelli** (Dip. Biotecnologie cellulari ed Ematologia, Università La Sapienza, Roma)

Finanziamento: 129.800 €. Adottato da: **Delegazione FFC Ricerca Boschi Sant'Anna Minerbe "Alla fine esce sempre il sole"** (€ 30.000); **Delegazione FFC Ricerca di Alberobello** (€ 25.000); **Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Bolzano** (€ 20.000). Adottabile per: € 54.800

■ **FFC#10/2021**

**Mutazioni orfane presenti nei pazienti italiani: caratterizzazione della risposta ai modulatori di CFTR**

Responsabile: **Nicoletta Pedemonte** (IRCCS Istituto Giannina Gaslini, UOC Genetica Medica, Genova)

Finanziamento: 130.000 €. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Ricerca di Genova** (€ 57.000); **Gruppo FC Altomilanese** (€ 8.000); **Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Campioglione Fenile** (€ 35.000); **Delegazione FFC Ricerca di Napoli** (€ 30.000)

■ **FFC#12/2021**

**Inibizione farmacologica della resistenza alla colistina nei patogeni Gram-negativi della fibrosi cistica**

Responsabile: **Fiorentina Ascenzioni** (Dip. Biologia e Biotecnologie C. Darwin, Università La Sapienza, Roma)

Finanziamento: € 84.040. Adottabile

■ **FFC#13/2021**

**Probiotici: una strategia emergente contro le infezioni polmonari in FC**

Responsabile: **Giovanna Batoni** (Dip. di Ricerca Traslazionale e delle Nuove Tecnologie in Medicina e Chirurgia, Università di Pisa)

Finanziamento: € 35.000. Adottato totalmente da: **Un respiro in più - Onlus e La mano tesa - Onlus**

■ **FFC#14/2021**

**La regolazione della virulenza e dell'antibiotico resistenza mediata da piccoli RNA come bersaglio per lo sviluppo di terapie non tradizionali contro *Pseudomonas aeruginosa***

Responsabile: **Giovanni Berton** (Dip. di Bioscienze, Università degli Studi di Milano)

Finanziamento: € 70.000. Adottabile

■ **FFC#15/2021**

**Affrontare la fago-resistenza per aumentare la solidità della terapia fagica nella cura delle infezioni batteriche in pazienti con fibrosi cistica (*PhaCyf*)**

Responsabile: **Federica Briani** (Dip. di Bioscienze, Università degli Studi di Milano)

Finanziamento: € 21.000. Adottato totalmente da: **Associazione Trentina Fibrosi Cistica ODV "In ricordo di Pio Nicolini"**

■ **FFC#16/2021**

**Valutazione delle proprietà antibatteriche del Kaftrio**

Responsabile: **Cristina Cigana** (Unità Infezioni e Fibrosi Cistica, divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie Infettive, Istituto San Raffaele Milano)

Finanziamento: 104.000 €. Adottato da: **Delegazione FFC Ricerca di Roma Vaticano** (€ 20.000); **Delegazione FFC Ricerca di Napoli** (€ 10.000); **Delegazione FFC Ricerca di Moncalvo** (€ 35.000). Adottabile per: € 39.000

■ **FFC#17/2021**

**Nuove combinazioni di farmaci contro le infezioni da micobatteri non tubercolari nella fibrosi cistica**

Responsabile: **Lanfranco Fattorini** (Dip. di Malattie Infettive, Istituto Superiore di Sanità, Roma)

Finanziamento: 70.000 €. Adottato da: **Delegazione FFC Ricerca di Roma Pomezia** (€ 15.000). Adottabile per: € 55.000

■ **FFC#18/2021**

**Nuove armi contro *Mycobacterium abscessus* e altri micobatteri non tubercolari**

Responsabile: **Maria Rosalia Pasca** (Università degli Studi di Pavia, Dip. di Biologia e Biotecnologia Lazzaro Spallanzani)

Finanziamento: 70.000 €. Adottato da: **Delegazione FFC Ricerca di Codogno e Piacenza** (€ 8.000); **Delegazione FFC Ricerca di Rovigo** (€ 8.000). Adottabile per: € 54.000

■ **FFC#19/2021**

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

Responsabile: **Barbara Cellini** (Università degli Studi di Perugia, Dip. di Medicina Sperimentale) Finanziamento: € 69.750 Adottabile

■ **FFC#20/2021**

**Terapie prorisolutive per la fibrosi cistica mediante resolvina D1 e nanotecnologie: studi preclinici per la consegna alla clinica di formulazioni innovative**

Responsabile: **Antonio Recchiuti** (Università G. d'Annunzio Chieti-Pescara, Dip. di Scienze Mediche, Orali e Biotecnologiche)

Finanziamento: 68.100 €. Adottato da: **Delegazione FFC Ricerca di Napoli** (€ 8.000). Adottabile per: € 60.100

■ **FFC#21/2021**

**La salute psichica nei pazienti affetti da fibrosi cistica: il ruolo prognostico del temperamento, della personalità e degli stili di attaccamento**

Responsabile: **Gianluca Serafini** (Dip. di neuroscienze, riabilitazione, oftalmologia, genetica e scienze materno-infantili - DINOGMI, Università degli Studi di Genova)

Finanziamento: 65.950 €. Adottato da: **Delegazione FFC Ricerca di Napoli** (€ 8.000); **Delegazione FFC Ricerca di Firenze** (€ 45.000). Adottabile per: € 12.950

















**Presidenza** Matteo Marzotto  
Segreteria di presidenza: Gabriella Cadoni  
Tel. 045 8123597  
presidenza@fibrosicisticaricerca.it

**Consiglio di Amministrazione**  
Presidente: Matteo Marzotto  
Presidente emerito: Vittoriano Faganelli  
Vicepresidenti: Paolo Faganelli, Michele Romano  
Consiglieri: Giorgio Berton, Riccardo Boatto, Raffaele Boscaini, Cesare Braggion, Callisto Marco Bravi, Sandro Caffi, Francesco Cobello, Michele Gangemi, Giuseppe Lauria Pinter, Giuseppe Magazzù, Laura Minicucci, Patrizia Volpato

**Direzione scientifica**  
Direttore: Giorgio Berton  
Segreteria scientifica: Federica Lavarini  
Tel. 045 8127037 - federica.lavarini@fibrosicisticaricerca.it

**Presidente del Comitato scientifico**  
Carlo Castellani  
carlo.castellani@fibrosicisticaricerca.it

**Gestione e promozione attività di ricerca clinica**  
Cesare Braggion  
cesarebraggion.133@gmail.com

**Gestione bandi e progetti di ricerca**  
Ermanno Rizzi  
Tel. 344 0221751 - ermanno.rizzi@fibrosicisticaricerca.it

**Comunicazione scientifica**  
Responsabile: Luisa Alessio  
luisa.alessio@fibrosicisticaricerca.it

**Comitato scientifico**  
Presidente: Carlo Castellani  
Consulenti: Paolo Bernardi, Cesare Braggion, Paola Bruni, Roberto Buzzetti, Oscar Moran, Gian Maria Rossolini

**Direzione di gestione**  
Giuseppe Zanferrari  
Tel. 045 8127028  
giuseppe.zanferrari@fibrosicisticaricerca.it

**Amministrazione**  
Responsabile: Gabriella Cadoni  
M. Bergamaschi, M. Giacomuzzi  
Tel. 045 8123597 - 7034 - 7025  
gabriella.cadoni@fibrosicisticaricerca.it  
michela.bergamaschi@fibrosicisticaricerca.it  
marina.giacomuzzi@fibrosicisticaricerca.it

**Comunicazione**  
Responsabile: Valeria Merighi  
I. Boarato, G. Bovi, S. Chignola  
Tel. 045 8123599 - 7026  
valeria.merighi@fibrosicisticaricerca.it  
isabella.boarato@fibrosicisticaricerca.it  
giulia.bovi@fibrosicisticaricerca.it  
stefania.chignola@fibrosicisticaricerca.it

**Progetti editoriali:** Marina Zanoli  
marina.zanoli@fibrosicisticaricerca.it

**Ufficio stampa:** Patrizia Adami  
Tel. 348 3820355  
patrizia@clabcomunicazione.it

**Raccolta fondi e rapporti con il territorio**  
Responsabile: Fabio Cabianca  
G. Buemi, L. Fratta, PF. Micara, F. Morbioli  
Tel. 045 8123605 - 7032 - 7033 - 7029  
fabio.cabianca@fibrosicisticaricerca.it  
giusy.buemi@fibrosicisticaricerca.it  
laura.fratta@fibrosicisticaricerca.it  
pierfrancesco.micara@fibrosicisticaricerca.it  
francesca.morbioli@fibrosicisticaricerca.it

**Fondazione Ricerca Fibrosi Cistica**  
c/o Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata  
Piazzale Stefani, 1 - 37126 Verona  
Tel. 045 8123438 - fondazione.ricercafc@aovr.veneto.it

## Delegazioni della Fondazione

Alessandria - Acqui Terme	366 1952515
Alessandria - Valle Scrivia	347 3095778
Ancona - Fabriano	347 8638704
Ascoli Piceno	320 4792114
Asti - Moncalvo	339 5819218
Avellino	349 3940749
Bari - Alberobello	329 2113764
Belluno	0437 943360
Bergamo - Trescore Balneario	338 4276716
Bergamo - Villa D'almè	335 8369504
Biella	331 9028525
Bologna	348 1565099
Bologna - Crevalcore	380 6570161
Brescia - Franciacorta Valle Camonica	340 6589530
Brindisi - Torre	327 2056244
Cagliari - Villasimius	348 7162291
Catania Mascalucia	333 1909983
Catania - Paternò	348 7237760
Catanzaro - Soverato	347 5283975
Cecina e Rosignano	340 6113886
Codogno e Piacenza	348 1113384
Como - Dongo	334 3081368
Cosenza Nord	349 0519433
Cosenza Sud	347 9041138
Cuneo - Alba	333 6301943
Fermo	339 4758897
Ferrara	347 4468030
Firenze	333 6485308
Firenze - Reggello	328 7043136
Foggia	320 4848190
Genova	348 1634818
Grosseto - Manciano	333 8221877
Imola e Romagna	347 9616369
Latina	328 8042186
Lecce	388 3498587
Lecco Valsassina	338 9993582
Livorno	0586 808093
Lodi	347 0969534
Lucca	340 3436289
Matera Montescaglioso	334 3477508
Messina	349 7109375
Milano	335 456809
Napoli e Pompei	081 679151
Napoli - San Giuseppe Vesuviano	338 7032132
Novara	331 7287449
Olbia	334 6655844
Oristano - Riola Sardo	342 5133252
Padova - Monselice	042 974085
Palermo e Trapani	338 4124077
Parma	0521 386303
Parma - Fidenza	334 6994359
Pavia	338 3950152
Pavia - Vigevano	339 2001843
Perugia	371 1464395
Perugia - Umbertide Città di Castello	320 9273469
Pesaro	347 0191092
Pescara	347 0502460
Prato	328 9076797
Ragusa - Vittoria Siracusa	338 6325645
Reggio Calabria	342 5618929
Reggio Emilia	0522 874720
Roma	331 8655610
Roma - Monterotondo	349 6500536
Roma - Pomezia	349 1538838
Roma - Vaticano	328 2442701
Rovigo	349 1252300
Sassari - Castelsardo	338 8437919
Siena	348 5435913
Sondrio - Morbegno	349 6852688
Sondrio - Valchiavenna	333 7063142
Taranto "A Carmen La Gioia"	320 8715264
Taranto - Massafra	329 2025039
Torino	328 8352087
Torino - Rivarolo Canavese	347 9672344
Treviso - Montebelluna	335 8413296
Treviso - Trevignano	340 6749202
Trieste	349 7246586

Varese	347 8347126
Varese - Tradate Gallarate	347 2441141
Verbania e V.C.O.	338 2328074
Vercelli	335 1264091
Verona	347 8480516
Verona - Bovolone	348 3395278
Verona - Cerea "Il Sorriso di Jenny"	339 4312185
Verona - Lago di Garda	348 7632784
Verona - Boschi Sant'Anna Minerbe	328 7140333
Verona - Val d'Alpone	328 9688473
Verona - Valdadige	340 6750646
Verona - Valpolicella	339 3316451
Vibo Valentia San Costantino Calabro	388 7767773
Vicenza	333 8877053
Viterbo	339 2107950

## Gruppi di sostegno della Fondazione

Agrigento	329 0165039
Alessandria - Casale Monferrato	392 6657566
Ancona Falconara	347 3329883
Arezzo	380 7784658
Bari - Altamura	334 7295932
Bari - Bitritto	340 1618950
Barletta	0883 519569
Benevento	347 4722532
Bergamo - Isola Bergamasca	349 5002741
Bergamo - Val Seriana	393 1462537 <b>NEW</b>
Bolzano	327 9151521
Bolzano - Val Badia	333 6911430
Brescia - Ghedi	333 6743788 <b>NEW</b>
Brindisi - Latiano	347 6350915
Cagliari - Isili	388 8925391
Campobasso	346 8744118
Cosenza - Cassano allo Ionio	346 3553586
Cremona	389 1191703
Cremona - Genivolta	347 9345030
Crotone	340 7784226
Crotone "Vita in te ci credo"	328 6146195
Ferrara - Comacchio	339 6511817
Foggia - Manfredonia	347 5012570
Foggia - San Giovanni Rotondo	340 8789661
Genova "Mamme per la ricerca"	333 4761744
Gorizia - Grado	328 6523404
Imperia	339 5073139
L'Aquila - Valle Peligna e Marsica	351 91974606 <b>NEW</b>
La Spezia - Sarzana "Natalina"	349 7665757
Macerata - Civitanova Marche	349 3746720
Medio Campidano	349 7829841
Messina - Capo D'Orlando	331 9564678
Messina - Tremestieri	342 7197671
Milano - Casarile	339 2055787
Milano - Lainate	348 3807009
Milano - Magenta	339 4887552
Milano - Seregno	338 4848262
Modena - Sassuolo	333 5862932
Monza Brianza - Vimercate	349 6706611 <b>NEW</b>
Napoli - Saviano	339 3185405
Nuoro - Siniscola	320 7953209
Padova - Urbana	347 0814872
Padova - Villa del Conte	333 9304431 <b>NEW</b>
Pistoia - Montecatini Terme	327 7054157
Ravenna - Faenza	0546 44310
Rovigo - Adria	377 2077527
Salerno - Golfo di Policastro	328 8660690
Sassari - Alghero	347 8650806
Savona - Spotorno	334 3368141
Siracusa - Melilli	333 2005089
Sondrio - Tresivio Ponte	366 7338007 <b>NEW</b>
Taormina	347 4222790
Teramo - Martinsicuro	388 9400461
Torino - Campiglione - Fenile	349 6250546
Torino - Chivasso	011 9172055
Torino - Ivrea	335 7716637
Torino - Nichelino	333 2923955
Trento - Ass.ne Trentina Fibrosi Cistica	340 5228888
Venezia - Mirano	340 1668645
Verona "Rita"	347 6064471

**fibrosicisticaricerca.it**



**Fondazione Ricerca Fibrosi Cistica**



**fondazioneffcricerca**



**Fondazione Ricerca Fibrosi Cistica**



Fondazione per la Ricerca  
sulla Fibrosi Cistica - Onlus  
[fibrosicisticaricerca.it](http://fibrosicisticaricerca.it)

**NON  
SPEZZARE  
LA VITA.  
SOSTIENI  
LA  
RICERCA.  
ANCHE  
A NATALE**



**UNA CURA PER TUTTI  
NATALE PER  
FFC RICERCA 2021**

Grazie ai ricercatori come Francesco, possiamo trovare una cura per tutti. Anche per le persone con FC come Davide. Unisciti a noi. Su [fibrosicisticaricerca.it](http://fibrosicisticaricerca.it) cerca i doni natalizi che aiutano la ricerca.

## Per donare

- Online sul sito: [fibrosicisticaricerca.it](http://fibrosicisticaricerca.it)
- Bonifico Unicredit Banca (senza commissione presso questi sportelli):  
**IT 47 A 02008 11718 000102065518**
- SWIFT-BIC code (per pagamenti dall'estero) **UNCRITM158**
- Banco BPM  
**IT 92 H 05034 11708 000000048829**
- c/c postale n. **18841379**
- 5x1000 alla FFC Ricerca n. **93100600233**

Le donazioni effettuate a favore di Onlus comportano il diritto di usufruire di alcune agevolazioni fiscali, così come previsto dal nostro sistema tributario.

Per approfondire: [fibrosicisticaricerca.it/benefici-fiscali-per-le-donazioni](http://fibrosicisticaricerca.it/benefici-fiscali-per-le-donazioni)



FFC Ricerca aderisce all'Istituto Italiano della Donazione che ne attesta l'uso trasparente ed efficace dei fondi raccolti, a tutela dei diritti del donatore.

Davide Valier, testimonial FFC Ricerca, e Francesco Berti, ricercatore. Fondazione ringrazia Istituto Italiano di Tecnologia.