



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

## AREA 1

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



### Progetto FFC#2/2020

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



#### Chi ha condotto la ricerca:

Responsabile: **Massimo Aureli**  
(Università degli Studi di Milano,  
Dipartimento di Biotecnologie mediche e  
Medicina translazionale)



#### Partner: **Anna Tamanini**

(Laboratorio di Patologia Molecolare,  
Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata  
di Verona)



Ricercatori coinvolti: 10



Qual è la durata dello studio: 2 anni



Finanziamento: € 87.000



#### Adottato da:

Associazione Trentina Fibrosi Cistica  
dedicato a Carmen Peterlana Cainelli,  
Delegazione FFC Ricerca di Vercelli,  
Delegazione FFC Ricerca di Vigevano





## Perché è importante

Evidenze sperimentali suggeriscono che i lipidi cellulari (o grassi) hanno un ruolo importante in fibrosi cistica (FC), in particolare nello stabilizzare il canale CFTR mutato presente sulla membrana plasmatica grazie al recupero dai farmaci modulatori e nel diminuire l'effetto negativo delle infezioni da parte del batterio *Pseudomonas aeruginosa*.



## Che cosa hanno usato i ricercatori

Sono state usate cellule epiteliali bronchiali con la mutazione F508del su CFTR, messe a contatto con il farmaco modulatore Kaftrio e due particolari composti lipidici, il ganglioside GM1 e il colesterolo (o il suo analogo beta-sitosterolo).



## Che cosa hanno fatto i ricercatori

Sono stati valutati il recupero di CFTR sulla membrana plasmatica, a opera del modulatore Kaftrio, e la stabilità del canale recuperato in presenza dei lipidi GM1 e colesterolo. Le analisi sono state condotte anche in presenza di infezione da *Pseudomonas aeruginosa*.



## Che cosa hanno ottenuto

La somministrazione esogena di ganglioside GM1 e colesterolo migliora l'effetto del Kaftrio in termini di aumento dei livelli di CFTR con F508del a livello della membrana delle cellule. Ciò avviene anche in presenza di infezione da *Pseudomonas aeruginosa*: il livello di CFTR mutata sulla membrana dopo la somministrazione del Kaftrio, infatti, viene in genere ridotto da *Pseudomonas aeruginosa*. Questo effetto negativo del batterio è parzialmente contrastato dalla somministrazione del lipide GM1, che aumenta la stabilità di CFTR.



## Che cosa succederà ora

Il lipide GM1 è già usato in alcuni studi clinici per valutare il suo potenziale terapeutico in altre malattie, diverse dalla fibrosi cistica. I dati raccolti in questo progetto suggeriscono che la co-somministrazione di GM1 con correttori e potenziatori di CFTR potrebbe essere considerata una strategia innovativa per migliorare l'efficacia dei modulatori sulla stabilità della proteina CFTR mutata, anche in presenza di infezioni da *Pseudomonas aeruginosa*.

## Per saperne di più



### Obiettivi

#### **Sperimentare l'associazione di particolari lipidi (GM1 e beta-sitosterolo) con modulatori di CFTR per migliorarne l'efficacia**

Il potenziatore ivacaftor, presente anche nella tripla combinazione Kaftrio, avrebbe come effetto collaterale quello di ridurre la quantità di proteina CFTR mutata a livello della membrana cellulare apicale. Un simile effetto di riduzione può essere causato anche da infezione da *Pseudomonas aeruginosa*. Tale effetto negativo può essere annullato da due composti lipidici (o grassi), come il ganglioside GM1 e il colesterolo (o il suo analogo beta-sitosterolo), alla base di farmaci già in uso per altre patologie. Il progetto di ricerca intende indagare la possibilità che la somministrazione di questi lipidi, deficitari nelle cellule epiteliali bronchiali FC, possa aumentare l'efficienza di correttori e potenziatori nel recupero funzionale di CFTR con mutazione F508del, anche in presenza di infezioni da *Pseudomonas aeruginosa*, stabilizzando così la proteina sulla membrana cellulare. Le analisi di laboratorio verranno eseguite su cellule primarie derivanti da polmoni espuntati di soggetti con fibrosi cistica. L'approccio potrebbe rappresentare il punto di partenza per lo sviluppo di nuove strategie terapeutiche basate sull'associazione di lipidi con correttori e potenziatori, per migliorare l'efficacia dei trattamenti con modulatori di CFTR.



### Risultati

#### **La somministrazione di lipidi assieme ai modulatori di CFTR migliora la stabilità e l'attività del canale e diminuisce l'effetto negativo dell'infezione da *Pseudomonas aeruginosa***

Evidenze sperimentali suggeriscono che i lipidi (grassi) cellulari hanno un ruolo importante in fibrosi cistica (FC), in particolare nello stabilizzare il canale CFTR sulla membrana plasmatica. Le cellule con la mutazione F508del su CFTR sono infatti caratterizzate da un'alterazione del contenuto lipidico, soprattutto per quanto riguarda sfingolipidi e colesterolo.

Quando le cellule con CFTR mutato sono trattate con il farmaco Kaftrio, il recupero di CFTR operato dal farmaco è accompagnato da un aumento del contenuto di una classe di sfingolipidi, i gangliosidi. In particolare, è stato osservato un aumento del ganglioside GM1, che interagisce direttamente con CFTR ed è deficitario nelle cellule FC.

In precedenza i ricercatori hanno dimostrato che la somministrazione di GM1 migliora la stabilità e l'attività del canale CFTR con mutazione F508del in presenza del farmaco Orkambi (lumacaftor/ivacaftor). All'interno di questo progetto si è osservato lo stesso effetto a seguito del trattamento con il Kaftrio.

In fibrosi cistica, le infezioni da *Pseudomonas aeruginosa* compromettono l'effetto benefico dei modulatori di CFTR. Si è visto che la somministrazione esogena di GM1 diminuisce l'effetto negativo dell'infezione, aumentando la stabilità di CFTR e riducendone il turnover.

Inoltre, al fine di aumentare i livelli cellulari di colesterolo, cellule con CFTR mutato con F508del sono state trattate con il Kaftrio in combinazione con particolari lipoproteine umane, cioè molecole formate da una proteina e lipidi di varia natura. Nel progetto sono state usate HDL e LDL e si è osservato che le lipoproteine, in particolare le LDL, sembrano coadiuvare il Kaftrio nel recupero di CFTR. Sulla base di questi dati, la co-somministrazione di GM1 e/o colesterolo con i modulatori di CFTR potrebbe rappresentare una strategia innovativa per migliorare l'efficacia di questi ultimi nel migliorare la stabilità sulla membrana plasmatica del canale mutato, anche in presenza di infezioni da *Pseudomonas aeruginosa*.

## Pubblicazioni



### *Evaluation of phages and liposomes as combination therapy to counteract Pseudomonas aeruginosa infection in wild-type and CFTR-null models*

Frontiers in Microbiology 2022

 frontiers | Frontiers in Microbiology

TYPE Original Research  
PUBLISHED 15 September 2022  
DOI 10.3389/fmicb.2022.979610



#### OPEN ACCESS

EDITED BY  
Matthew Gavino Donadu,  
University of Sassari, Italy

REVIEWED BY  
Payam Behzadi,  
Islamic Azad University, Iran  
Helal F. Hetta,  
Assiut University, Egypt  
Mustafa Sadek,  
Université de Fribourg, Switzerland

\*CORRESPONDENCE  
Anna Pistocchi  
anna.pistocchi@unimi.it

†These authors have contributed  
equally to this work

SPECIALTY SECTION  
This article was submitted to  
Antimicrobials, Resistance and  
Chemotherapy,  
a section of the journal  
Frontiers in Microbiology

RECEIVED 27 June 2022  
ACCEPTED 15 August 2022  
PUBLISHED 15 September 2022

## Evaluation of phages and liposomes as combination therapy to counteract *Pseudomonas aeruginosa* infection in wild-type and CFTR-null models

Marco Cafora<sup>1,2</sup>, Noemi Poerio<sup>3</sup>, Francesca Forti<sup>4</sup>,  
Nicoletta Loberto<sup>1</sup>, Davide Pin<sup>1,5</sup>, Rosaria Bassi<sup>1</sup>,  
Massimo Aureli<sup>1</sup>, Federica Briani<sup>4</sup>, Anna Pistocchi<sup>1\*</sup> and  
Maurizio Fraziano<sup>3†</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Biotechnologie Mediche e Medicina Traslazionale, Università degli Studi di Milano, Segrate, MI, Italy, <sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Cliniche e Comunità, Università degli Studi di Milano, Milan, MI, Italy, <sup>3</sup>Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Roma "Tor Vergata", Rome, Italy, <sup>4</sup>Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Milano, Milan, Italy, <sup>5</sup>Dipartimento di Biologia e Biotechnologie Charles Darwin, Università degli Studi di Roma "La Sapienza", Rome, Italy

## Funding

This work has been supported by the Fondazione per la Ricerca Sulla Fibrosi Cistica grants FFC#15/2021 to FB; FFC#21/2017, FFC#23/2019, and FFC#15/2022 to AP; FFC#02/2020, FFC#02/2018, and FFC#1/2022 to MA; and FFC#21/2019 to MF.

## Abstract presentati a congressi scientifici



- ***Ganglioside GM1 in Cystic Fibrosis: a lipid approach to stabilize F508DEL-CFTR at the plasma membrane.***  
6th Workshop BioMeTra, 20 September 2022, Segrate (MI)
- ***Accessory mechanisms of action of Trikafta®: its effect on the sphingolipid metabolism.***  
ECFS Basic Science Conference, 30 March-03 April 2022, Albufeira, Portugal
- ***CFTR modulators and ganglioside GM1: a new combination for the treatment of Cystic Fibrosis.***  
Biochemistry Global Unit, 46th FEBS congress, 9-14 July, 2022, Lisbona
- ***CFTR modulators and ganglioside GM1: new insight in the treatment of Cystic Fibrosis.***  
ECFS Basic Science Conference, 30 March-03 April 2022, Albufeira, Portugal
- ***CFTR modulators and ganglioside GM1: possible therapeutic approach in Cystic Fibrosis***  
33rd "A. Castellani" Meeting of PhD Students in Biochemical Sciences, 6-9 June 2022, Brallo di Pregola (PV)
- ***CFTR modulators and sphingolipids: new insight in the treatment of Cystic Fibrosis.***  
5th Workshop BioMeTra, 27 September 2021, Segrate (MI)
- ***CFTR modulators and sphingolipids: new insight in the treatment of Cystic Fibrosis.***  
32nd "A. Castellani" Meeting of PhD Students in Biochemical Sciences, 13-16 September 2021, Brallo di Pregola (PV)
- ***Ganglioside GM1 in Cystic Fibrosis: a lipid approach to stabilize F508DEL-CFTR at the plasma membrane.***  
Meeting of Young Biochemists in Lombardy, 20 June 2022, Milano

## Rendiconto economico



### AREA 1

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

#### Progetto 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, Dipartimento di Biotecnologie Mediche e Medicina  
Traslazionale)



**Periodo:**

01/09/2020-31/08/2022



**Grant assegnato:**

€ 87.000



**Usato per:**

- Materiale di consumo € 68.448,56
- Spese viaggio/convegni € 2.279,95
- Borse di studio € 12.000,00
- Servizi scientifici € 750,00
- Spedizioni € 224,51

€ 83.703,02



**Saldo (usato per altri progetti):**

€ 3.296,98