



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 #3/2022

Ripristino dell'attività di CFTR con mutazioni rare  
attraverso un peptide derivato dall'enzima PI3Ky



**Chi ha condotto la ricerca:**

Responsabile: **Emilio Hirsch**  
(Dipartimento di Biotecnologia Molecolare e  
Scienze della Salute, Università di Torino)



**Ricercatori coinvolti:** 4



**Qual è la durata dello studio:** 2 anni

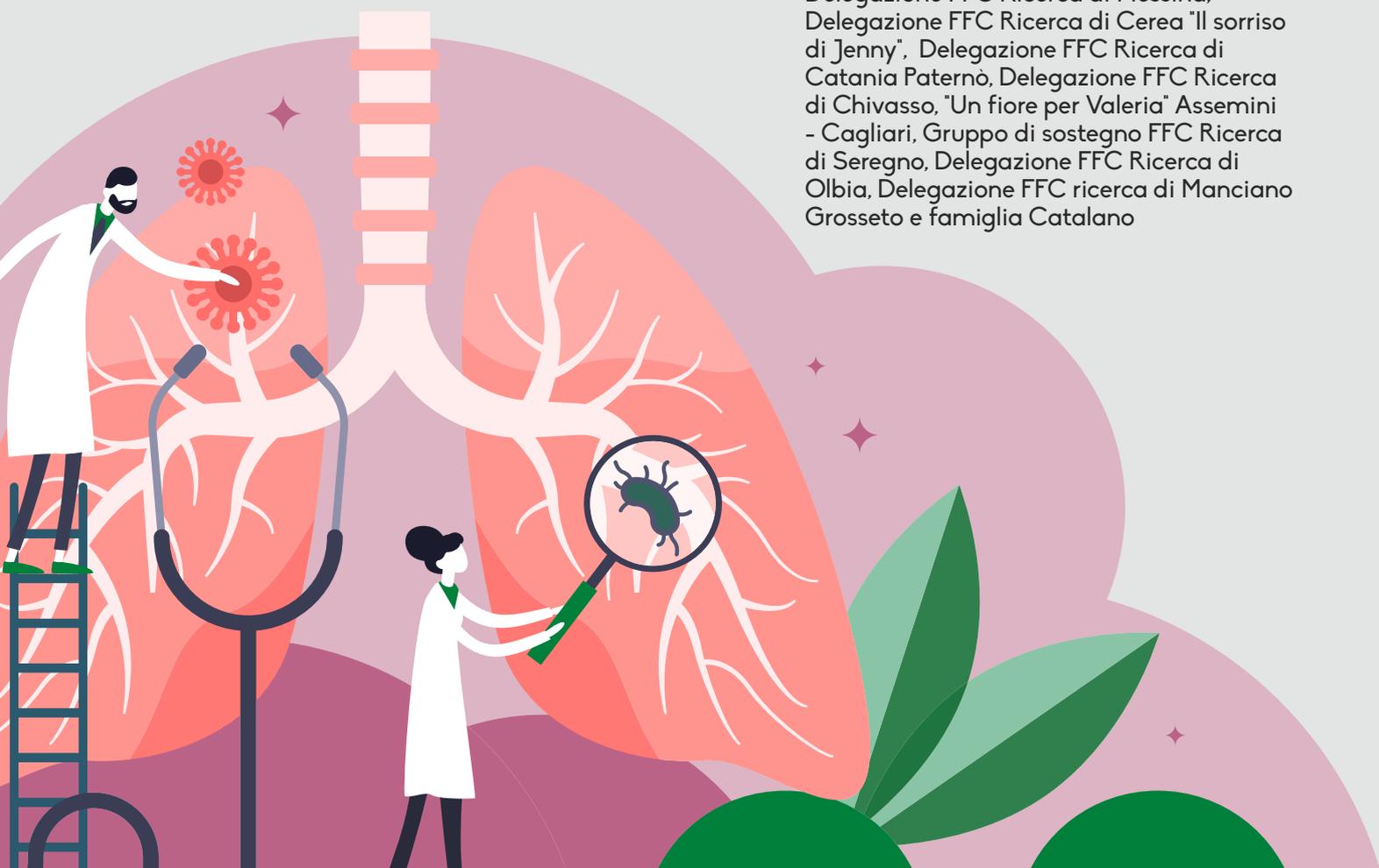


**Finanziamento:** € 128.000



**Adottato da:**

Delegazione FFC Ricerca di Messina,  
Delegazione FFC Ricerca di Cerea "Il sorriso  
di Jenny", Delegazione FFC Ricerca di  
Catania Paternò, Delegazione FFC Ricerca  
di Chivasso, "Un fiore per Valeria" Assemini  
- Cagliari, Gruppo di sostegno FFC Ricerca  
di Seregno, Delegazione FFC Ricerca di  
Olbia, Delegazione FFC ricerca di Manciano  
Grosseto e famiglia Catalano





## Perché è importante

Nonostante i benefici clinici, a livello molecolare la terapia per la fibrosi cistica (FC) con Kaftrio (o ETI) ripristina solo il 50% della funzione del canale mutato F508del-CFTR, e nelle persone con FC persistono problemi come l'alterata secrezione di muco, infezioni e infiammazione. Da precedenti progetti (FFC#8/2018, FFC#25/2014 e FFC#23/2015) si è visto che il peptide mimetico di PI3Ky (PI3Ky MP) può influenzare la funzionalità di CFTR. Qui l'ipotesi è che PI3Ky MP possa potenziare l'efficacia di ETI agendo come stimolatore dell'AMP ciclico (cAMP), un metabolita che funge da messaggero ed è cruciale per la regolazione di CFTR. L'aumento dei livelli di cAMP potrebbe infatti ottimizzare l'efficacia di ETI, migliorando ulteriormente la funzione di CFTR e gli esiti clinici per le persone con FC.



## Che cosa hanno usato i ricercatori

Sono state usate cellule epiteliali bronchiali derivate da pazienti con mutazioni F508del-G542X. Il meccanismo d'azione di PI3Ky MP è stato analizzato con tecniche biochimiche.



## Che cosa hanno fatto i ricercatori

L'attività di CFTR è stata valutata trattando le cellule con ETI e con PI3Ky MP, e misurando la secrezione di cloruro dipendente dall'attività di CFTR.

È stata analizzata la quantità di canale CFTR sulla membrana plasmatica e la sua stabilità nel tempo, monitorando i tassi di degradazione proteica. Si è anche cercato di identificare eventuali modificazioni di CFTR in risposta al trattamento con PI3Ky MP.



## Che cosa hanno ottenuto

Nelle cellule analizzate, il trattamento combinato con ETI e PI3Ky MP aumenta l'attività totale di CFTR del 25% rispetto al solo ETI. Questa combinazione raddoppia la stabilità di F508del-CFTR, lasciando il 67% del canale non degradato dopo 6 ore di blocco della sintesi proteica (rispetto al 30% con solo ETI).

Inoltre si è visto che per l'effetto stabilizzante di PI3Ky MP è cruciale una proteina chiamata PKD1.



## Che cosa succederà ora

Questo studio ha identificato il potenziale di PI3Ky MP come stabilizzatore di F508del-CFTR, aumentando l'attività totale, la quantità e la stabilità del canale sulla membrana. Ulteriori ricerche saranno necessarie per convalidare l'effetto e il meccanismo d'azione del composto anche su altre mutazioni del gene CFTR.

## Per saperne di più



### Obiettivi

#### **Valutare l'efficacia del recupero di CFTR con mutazioni rare da parte del peptide PI3Ky, attualmente in una fase avanzata di sviluppo preclinico**

Il gruppo di ricerca prosegue l'attività di studio del peptide mimetico PI3Ky derivato dall'enzima fosfatidilinositolo 3-chinasi gamma, in grado di influenzare la funzionalità del canale CFTR. Grazie ai risultati dei precedenti progetti (FFC#8/2018, FFC#25/2014 e FFC#23/2015), il peptide PI3Ky ha mostrato un'azione sinergica con il Kaftrio, combinazione di modulatori del canale CFTR già approvata anche in Italia per i pazienti portatori di almeno una copia del gene CFTR con la mutazione F508del. I ricercatori procedono ora con ulteriori studi per valutare se il peptide PI3Ky è in grado di ripristinare la funzione di CFTR anche in presenza di mutazioni rare (classe III-IV, come G551S, G1244E, S549N, R117C, S945L), sia come agente singolo sia in combinazione con i modulatori Kalydeco (ivacaftor) e Kaftrio (ivacaftor/tezacaftor/elexacaftor). Il gruppo di ricerca prevede inoltre di studiare il meccanismo d'azione con cui il peptide PI3Ky ripristina la funzionalità della proteina CFTR mutata. L'attività di PI3Ky verrà valutata in linee cellulari e in cellule epiteliali isolate da persone con FC.

PI3Ky è un composto a uno stadio di sviluppo preclinico avanzato. Il gruppo di ricerca riporta infatti che sono in corso studi certificati di sicurezza e tossicologia su animali e che presto inizieranno le valutazioni della sicurezza del farmaco sull'uomo. I risultati di questo progetto potrebbero essere trasferiti al paziente attraverso un percorso accelerato poiché potrebbero beneficiare di procedure normative già completate.



### Risultati

#### **Il peptide PI3Ky ha un effetto stabilizzante su CFTR e potenzia l'effetto del Kaftrio**

La terapia con Kaftrio (o ETI) apporta benefici clinici alle persone con fibrosi cistica (FC), tuttavia a livello molecolare ripristina solo il 50% della funzione del canale mutato F508del-CFTR: nelle persone con FC persistono quindi un'alterata secrezione di muco, infezioni e infiammazione.

Il peptide mimetico di PI3Ky (PI3Ky MP) può potenziare l'efficacia di ETI agendo come stimolatore dell'AMP ciclico (cAMP), un metabolita che funge da messaggero ed è cruciale per la regolazione di CFTR. Infatti, l'aumento dei livelli di cAMP potrebbe a sua volta ottimizzare l'efficacia di ETI, migliorando ulteriormente la funzione di CFTR e gli esiti clinici per le persone con FC.

Le valutazioni sull'attività di CFTR sono state effettuate su cellule epiteliali bronchiali derivate da pazienti con mutazioni F508del/G542X; le cellule sono state trattate con ETI e con PI3Ky MP, ed è stata misurata la secrezione di cloruro attraverso il canale CFTR.

Per analizzare il meccanismo d'azione del peptide, sono state usate tecniche biochimiche: sono stati eseguiti esperimenti per quantificare il canale CFTR nella membrana plasmatica e per valutarne la stabilità nel tempo, monitorando i tassi di degradazione proteica.



Nelle cellule analizzate, si è osservato che il trattamento con ETI e PI3K $\gamma$  MP aumenta l'attività totale di CFTR del 25% rispetto al solo ETI. Questa combinazione raddoppia la stabilità del CFTR, lasciando il 67% del canale non degradato dopo 6 ore di blocco della sintesi proteica (rispetto al 30% con solo ETI).

Infine sono state studiate le modificazioni della proteina in risposta al trattamento con PI3K $\gamma$  MP, identificando una proteina, chiamata PKD1, che agisce come mediatore chiave dell'effetto stabilizzante di PI3K $\gamma$  MP.

PI3K $\gamma$  MP agisce quindi come un efficace stabilizzatore di CFTR, aumentando l'attività totale, la quantità e la stabilità alla membrana del canale.

Saranno necessarie ulteriori ricerche per convalidare l'effetto e il meccanismo d'azione del composto anche su altri genotipi di FC, cioè su altre combinazioni di mutazioni del gene CFTR.

## Rendiconto economico



### AREA 1

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

#### Progetto FFC #3/2022

### Ripristino dell'attività di CFTR con mutazioni rare attraverso un peptide derivato dall'enzima PI3Ky



**Responsabile:**

**Emilio Hirsch**

(Dipartimento di Biotecnologia Molecolare e Scienze della Salute, Università di Torino)



**Periodo:**

01/09/22 - 31/08/24



**Grant assegnato:**

€ 128.000,0



**Usato per:**

- Materiale di consumo € 91.888,6
- Spese viaggio/convegni € 4.584,0
- Borse di studio € 8.650,0
- Servizi scientifici € 19.822,0

€ 124.944,5



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

€ 3.055,5