



PROGETTO DI RICERCA IERFC

Agosto 2017

TITOLO DEL PROGETTO

Nuove terapie per la correzione del difetto di base della F508del-CFTR e per il controllo della malattia polmonare in Fibrosi Cistica

➤ ***Coordinatore del progetto: Prof. Luigi Maiuri, Direttore Scientifico, Istituto Europeo per la Ricerca in Fibrosi Cistica, Ospedale San Raffaele, Milano.***

Negli ultimi anni l'attività dei ricercatori dello IERFC è stata rivolta all'identificazione di nuove molecole in grado di correggere il difetto di base della Fibrosi Cistica (FC). Il percorso di ricerca preclinica ha portato all'identificazione di due molecole, la cisteamina e l'Epigallocatechingallato (EGCG), in grado di ripristinare la funzione della proteina CFTR con mutazione F508del, la mutazione più diffusa nella razza caucasica. In accordo con la mission di IERFC, la cisteamina è l'esempio di una molecola "riposizionata" cioè di una molecola che è già farmaco di scelta per la cura di un'altra malattia genetica umana, la cistinosi nefropatica, con profilo di sicurezza già noto anche in età pediatrica. L'EGCG è invece un flavonoide naturale del tè verde, quindi un nutraceutico. La loro azione combinata in studi in vitro su cellule e poi in modelli murini per la Fibrosi Cistica, si è dimostrata in grado di correggere alcuni processi di regolazione cellulare alterati nella cellula FC, come il difetto di autofagia, consentendo in tal modo il recupero della funzione della CFTR mutata e il decremento dello stato di infiammazione, tipico della malattia.

Questo percorso di ricerca "traslazionale", che parte cioè dalla ricerca di base e muove attraverso una sperimentazione in cellule e in modelli animali di malattia fino alla sperimentazione clinica nei pazienti, ha permesso l'esecuzione di un primo studio clinico pilota di fase 2 su 10 pazienti omozigoti per la mutazione F508del, di almeno 8 anni, i cui risultati sono stati pubblicati nel 2014 sulla rivista internazionale *Autophagy* ("Restoration of CFTR function in patients with cysticfibrosiscarrying the F508del-CFTR mutation"). La terapia combinata si è mostrata efficace sul recupero della funzione della proteina CFTR, evidenziato dalla riduzione della concentrazione del cloro al test del sudore e dall'incremento del flusso di cloro e dell'espressione in membrana della proteina in cellule epiteliali nasali dei pazienti, e sulla normalizzazione di specifici marcatori di infiammazione nell'espettorato dei pazienti trattati. Lo studio ha inoltre confermato la buona tollerabilità della cisteamina. Considerati gli incoraggianti risultati ottenuti durante la prima fase dello studio, è stato chiesto e ottenuto un emendamento che ha permesso di coinvolgere nella sperimentazione un maggior numero di pazienti anche con mutazioni differenti dalla F508del. Lo studio su 42 pazienti ha confermato l'efficacia della combinazione terapeutica (riduzione della concentrazione del cloro al test sudore, incremento della funzione e dell'espressione della proteina CFTR in membrana, riduzione dell'infiammazione polmonare) nei pazienti omozigoti per la mutazione F508del, ma ha anche dimostrato che questo trattamento è efficace anche nei pazienti eterozigoti composti per la F508del, e anche nei pazienti portatori di altre mutazioni di classe II (simili alla F508del). Anche i risultati di questo secondo studio sono stati pubblicati recentemente (Aprile 2016) sulla rivista internazionale *Cell Death & Differentiation* (Tosco A et al. A novel

treatment of cystic fibrosis acting on-target:cysteamine plus epigallocatechin gallate for the autophagy-dependent rescue of class II-mutated CFTR.).

Nonostante si tratti di sperimentazioni effettuate su un numero ancora esiguo di pazienti e con un periodo di trattamento troppo breve, si è dimostrato per la prima volta, che è possibile correggere il difetto di base, con strategie diverse da quelle attualmente percorse, anche in pazienti con FC con mutazioni di Classe II diverse dalla F508del. Questi risultati segnano un decisivo passo avanti nell'uso della combinazione di diverse molecole per una terapia personalizzata per pazienti con FC con diversi difetti funzionali associati alle singole mutazioni della CFTR.

Pertanto, la ricerca di IERFC mira sia a comprendere meglio i meccanismi attraverso cui la cisteamina esercita i suoi effetti benefici, sia a valutare se questo trattamento impatta su altri elementi essenziali della patologia FC. Ulteriori studi dei ricercatori IERFC hanno dimostrato infatti che la cisteamina favorisce anche l'*uptake* (cioè il processo di cattura dei batteri da parte dei macrofagi) e la eliminazione dei batteri dalle cellule in differenti modelli animali di malattia, attraverso il ripristino della funzione della CFTR e dell'autofagia.

La cisteamina è quindi in grado sia di recuperare la funzione della CFTR attraverso la normalizzazione della risposta utofagica e, conseguentemente, ridurre l'inflammatione polmonare, sia di migliorare la difettosa risposta del paziente alla infezione batterica che, a sua volta, innesca e sostiene un processo infiammatorio.

Sulla base di questi risultati è in corso uno progetto di ricerca che mira alla identificazione di altre molecole potenzialmente capaci di interferire su queste vie che sono alterate a causa delle mutazioni della CFTR. Un recente studio che i ricercatori IERFC hanno condotto in collaborazione con prestigiosi gruppi di ricerca ha dimostrato che la alfa-timosina, molecola nota da molti anni, può rappresentare una potente e nuova terapia capace sia di controllare l'inflammatione che di recuperare la funzione della CFTR F508del in modelli animali e in cellule primarie da pazienti con Fibrosi Cistica.

Pertanto, l'attuale ricerca dello IERFC segue essenzialmente tre progettii paralleli:

- a. l'esecuzione di un trial clinico multicentrico con cisteamina ed EGCG in pazienti con Fibrosi Cistica
- b. la individuazione di biomarcatori in grado sia di predire la possibile risposta individuale del paziente al trattamento, sia di monitorare precocemente l'efficacia clinica del trattamento
- c. la identificazione di altre molecole in grado di interferire con gli stessi processi patologici corretti dalla cisteamina, ma dotati di una maggiore efficacia. La strategia utilizzata da IERFC a tale scopo e' un percorso di *drug repositioning* (utilizzo di farmaci già in uso in altre malattie con possibile applicazione in FC). Questa ricerca ha già condotto alla identificazione di due molecole che si sono rivelate efficaci su sistemi cellulari e per le quali è prevista la validazione su differenti modelli animali di malattia e su cellule primarie di pazienti con FC. Questo percorso potrebbe portare al disegno di nuovi trials clinici per trasferire i risultati della ricerca di base in clinica.

Prof. Luigi Maiuri, MD

Direttore Scientifico IERFC