



Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca
Direzione Generale per il Coordinamento, la Promozione e la Valorizzazione della
Ricerca
Uff. V.

Rendiconto di spesa Fondi 5 per mille ANNO 2019
Enti della Ricerca Scientifica

Ente¹: AriSLA – Fondazione Italiana di Ricerca per la SLA

Codice fiscale: 97511040152

Indirizzo sede legale: Via Poerio 14, 20129 Milano

Referenti (nominativo, telefono, e.mail):

Segretario Generale Dott. Paolo Masciocchi, 02 20242390,

paolo.masciocchi@arista.org

Attività: POTENTIALS

La SLA è una malattia neurodegenerativa incurabile caratterizzata dalla perdita progressiva dei motoneuroni nella corteccia cerebrale, nel tronco encefalico e nel midollo spinale. Ad oggi la causa della sua insorgenza è sconosciuta nel 90-95% dei casi mentre nel rimanente 5-10% è stata associata a mutazioni di specifici geni. Tra gli oltre 20 geni che sono stati associati alla malattia, mutazioni nel gene che codifica per la proteina SOD1 sono causa di circa il 20% dei casi di SLA familiare.

L'ipotesi di questo progetto è che un RNA non codificante per proteine, localizzato molto vicino al gene SOD1, contribuisca alla regolazione della sua attività. Gli RNA non codificanti per proteine costituiscono circa il 98% del genoma umano e svolgono funzioni nella regolazione dell'espressione genica, regolando il flusso delle informazioni tra il DNA e le proteine, sebbene di fatto non vengono tradotte in proteine.

Lo scopo di questo progetto è stato quello di sviluppare una strategia che possa neutralizzare l'effetto dannoso del gene SOD1, interagendo con l'RNA non codificante che regola la sua trascrizione.

Sono state sintetizzate piccole molecole ad azione mirata a modulare la rete trascrizionale che regola il gene SOD1 e l'attività degli oligonucleotidi antisense generati è stata valutata in linee cellulari neuronali e in fibroblasti di pazienti con SLA con differenti mutazioni del gene SOD1.

Sono stati identificati diversi RNA non codificanti nelle regioni di genoma che affiancano il gene SOD1 e ne sono stati validati alcuni per la loro capacità di ridurre l'espressione della proteina SOD1 in modelli cellulari neuronali.

Ulteriori analisi saranno necessarie per testare l'efficacia di questi RNA non codificanti nel reprimere l'espressione della proteina tossica SOD1 in cellule derivate da pazienti con SLA.

¹ Istituzione beneficiaria del contributo del 5 per mille.

Gli interventi farmacologici dedicati a prevenire o a fermare la degenerazione dei motoneuroni nella SLA non hanno avuto successo e c'è urgente bisogno di approcci terapeutici innovativi.

La potenziale scoperta di un RNA non codificante collegato al gene SOD1 potrebbe dare il via ad una ricerca traslazionale con ricadute nella pratica clinica, inoltre i risultati di questo studio potrebbero costituire le basi per il deposito di un brevetto. A partire dai risultati attesi da questa ricerca, in seguito alla loro validazione funzionale, potrebbe essere sviluppata la produzione industriale di inibitori molecolari e/o di agenti bloccanti che rallentino la progressione della malattia.

Data di inizio progetto: 6 giugno 2020

Data di fine progetto: 31 maggio 2021

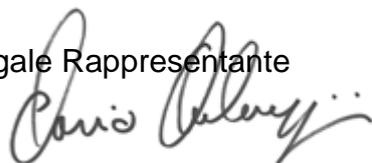
VOCI DI SPESA	COSTO COMPLESSIVO	QUOTA FINANZIATA CON FONDI 5 PER MILLE
Personale di ricerca (borsista, a contratto e di ruolo in quota parte)	€ 18.000,00	€ 9.433,80
Apparecchiature (ammortamento, canone di locazione/leasing)		
Materiale d'uso destinato alla ricerca (per laboratori di ricerca, ecc.)	€ 30.284,00	€ 16.909,69
Spese di organizzazione (manifestazioni e convegni, viaggi, missioni ecc.)	€ 6.000,00	€ 1.745,41
Elaborazione dati		
Spese amministrative	€ 5.716,00	€ 5.716,00
Altro (indicare quali)		
TOTALE	€ 60.000,00	€ 33.804,90

Data 26 ottobre 2021

Il Legale Rappresentante


Si autorizza al trattamento dei dati ai sensi del d.lgs. 196/2003

Il Legale Rappresentante

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Carlo Calvi". The signature is written in a cursive style with a prominent initial 'C'.



Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca
Direzione Generale per il Coordinamento, la Promozione e la Valorizzazione della
Ricerca
Uff. V.

Rendiconto di spesa Fondi 5 per mille ANNO 2019
Enti della Ricerca Scientifica

Ente¹: AriSLA – Fondazione Italiana di Ricerca per la SLA

Codice fiscale: 97511040152

Indirizzo sede legale: Via Poerio 14, 20129 Milano

Referenti (nominativo, telefono, e.mail):

Segretario Generale Dott. Paolo Masciocchi, 02 20242390, paolo.masciocchi@arista.org

Attività: GPR17ALS-1

Recentemente è stato dimostrato che la degenerazione dei motoneuroni è strettamente associata ad alterazioni nella funzionalità degli oligodendrociti, le cellule che formano la guaina mielinica che avvolge e protegge i motoneuroni. Preservare la loro funzionalità e aumentare le capacità rigenerative dei loro precursori (OPC) potrebbe avere un impatto sull'andamento della malattia.

Un regolatore chiave della maturazione degli OPC è il recettore GPR17, espresso in maniera specifica da una sottopopolazione di OPC durante il processo di maturazione.

Recenti studi ottenuti dal gruppo di ricerca, anche grazie al supporto di Fondazione AriSLA di un progetto Pilot nel 2016 (<http://www.arista.org/wp-content/uploads/2017/01/GPR17ALS.pdf>), hanno dimostrato come, agendo con approcci farmacologici su questo recettore, sia possibile indurre un recupero funzionale degli oligodendrociti, preservando la guaina mielinica e dunque la conduzione degli impulsi nervosi.

Obiettivo del progetto è valutare l'attività terapeutica di molecole che si legano al recettore GPR17 in modelli murini di SLA analizzando la progressione della malattia e la sopravvivenza.

Nel primo anno di progetto sono stati trattati animali modello di SLA (topi SOD1G93A) con l'antagonista di GPR17, montelukast, alla dose di 30mg/kg/giorno, a partire dai primi sintomi clinici sino alla fase terminale della patologia. I risultati preliminari hanno mostrato un miglioramento della sopravvivenza e di alcune performance motorie negli animali trattati rispetto a quelli non trattati. Sono ad oggi in corso ulteriori esperimenti per consolidare questi risultati.

In parallelo, il gruppo di ricerca sta generando una nuova linea reporter inducibile GPR17-CreERT2:eGFP/SOD1G93A, che permetterà di marcare con la proteina fluorescente GFP gli OPC esperimenti GPR17 e la loro progenie per seguirli durante la malattia e dopo

¹ Istituzione beneficiaria del contributo del 5 per mille.

trattamento farmacologico. L'efficacia di questo approccio sarà corroborata da analisi immunoistochimiche e di microscopia elettronica.

Infine, l'allestimento di colture di oligodendrociti originati da cellule staminali pluripotenti indotte (iPSCs - induced pluripotent stem cells) derivate da pazienti con SLA permetterà di analizzare gli effetti di molecole terapeutiche che agiscono sul recettore GPR17 in cellule umane.

I risultati getteranno le basi per un approccio farmacologico in grado di modulare il recettore GPR17 nella SLA.

Pubblicazioni derivate dal progetto:

1. Elisabetta Bonfanti, Tiziana Bonifacino, Stefano Raffaele, Marco Milanese, Erica Morgante, Giambattista Bonanno, Maria P Abbracchio, Marta Fumagalli. Abnormal Upregulation of GPR17 Receptor Contributes to Oligodendrocyte Dysfunction in SOD1 G93A Mice. *Int J Mol Sci.* 2020 Mar 31;21(7):2395. doi: 10.3390/ijms21072395.

2. Raffaele S, Boccazzi M, Fumagalli M. Oligodendrocyte Dysfunction in Amyotrophic Lateral Sclerosis: Mechanisms and Therapeutic Perspectives. *Cells* 2021, 10, 565. <https://doi.org/10.3390/cells10030565>

Partecipazioni a congressi:

1. S. Raffaele, T. Bonifacino, N. Nguyen, M. Milanese, G. Bonanno, M. P. Abbracchio, M. Fumagalli. Oral communication (invited speaker): Abnormal up-regulation of P2Y-like receptor GPR17 contributes to oligodendrocyte dysfunction in a murine model of ALS. 40° Congresso Nazionale della Società Italiana di Farmacologia. March 9-13, 2021

2. T. Bonifacino, S. Raffaele, N. Nguyen, M. Milanese, G. Bonanno, M. P. Abbracchio, M. Fumagalli. Effects of the GPR17 antagonist montelukast on oligodendrocyte dysfunction and disease outcome in the SOD1G93A mouse model of ALS. Abstract submitted for the "XV European Meeting on Glial Cells in Health and Disease". Virtual meeting, July 5-9, 2021.

Data di inizio progetto: 28 aprile 2020

Data di fine progetto: 27 aprile 2023

VOCI DI SPESA	COSTO COMPLESSIVO	QUOTA FINANZIATA CON FONDI 5 PER MILLE
Personale di ricerca (borsista, a contratto e di ruolo in quota parte)	€ 82.000,00	€ 30.400,00
Apparecchiature (ammortamento, canone di locazione/leasing)		
Materiale d'uso destinato alla ricerca (per laboratori di ricerca, ecc.)	€ 86.719,00	€ 16.373,25
Spese di organizzazione (manifestazioni e convegni, viaggi, missioni ecc.)	€ 9.500,00	€ 2.685,93
Elaborazione dati		

Spese amministrative	€ 18.181,00	€ 7.306,53
Subcontratti	€ 3.600,00	€ 2.018,2
TOTALE	€ 200.000,00	€ 58.783,91

Data 26 ottobre 2021


Il Legale Rappresentante

Si autorizza al trattamento dei dati ai sensi del d.lgs. 196/2003

Il Legale Rappresentante




Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca
Direzione Generale per il Coordinamento, la Promozione e la Valorizzazione della
Ricerca
Uff. V.

Rendiconto di spesa Fondi 5 per mille ANNO 2019
Enti della Ricerca Scientifica

Ente¹: AriSLA – Fondazione Italiana di Ricerca per la SLA

Codice fiscale: 97511040152

Indirizzo sede legale: Via Poerio 14, 20129 Milano

Referenti (nominativo, telefono, e.mail):

Segretario Generale Dott. Paolo Masciocchi, 02 20242390,

paolo.masciocchi@arista.org

Attività: T-A-MN

La Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA) è una malattia neurodegenerativa progressiva che colpisce le cellule nervose nel cervello e nel midollo spinale. La SLA si può presentare in forma sporadica o familiare. Quest'ultima è caratterizzata da una forte base genetica. Alcuni anni fa è stata identificata una nuova mutazione associata alla SLA, TARDBP G376D, identificata in numerosi membri di una famiglia del Sud Italia. Da allora il gruppo di ricerca ha collezionato numerosi campioni biologici di diversi membri della famiglia, sia sintomatici, sia familiari sani portatori della mutazione ma asintomatici oppure senza mutazione. La relativa proteina, chiamata TDP-43, mostra la sostituzione di un aminoacido che può influenzare le sue funzioni.

Obiettivo del progetto è studiare il ruolo della mutazione TARDBP G376D sulla localizzazione ed espressione della proteina TDP-43 e, più in generale, sulla fisiopatologia della malattia sia in condizioni basali che in seguito all'induzione di stress cellulare acuto e cronico. Per comprendere meglio l'impatto della mutazione sulla malattia, saranno effettuate diverse analisi utilizzando motoneuroni differenziati da cellule staminali pluripotenti (iPSC), derivate dalle cellule epiteliali (fibroblasti) sia di soggetti portatori della mutazione, sintomatici ed asintomatici, sia di soggetti sani.

Nella prima parte di progetto sono stati ottenuti e analizzati i fibroblasti di 3 soggetti appartenenti ad una stessa famiglia portatrice della specifica mutazione del gene TARDBP che codifica per la proteina TDP-43. Il primo è un paziente con SLA portatore della mutazione G376D, il secondo, seppur asintomatico, è portatore della stessa mutazione, mentre il terzo soggetto non è portatore della mutazione. In queste cellule sono state analizzate le proprietà biochimiche e la localizzazione subcellulare della

¹ Istituzione beneficiaria del contributo del 5 per mille.

proteina TDP-43. Inoltre, i fibroblasti sono stati esposti ad un agente tossico che causa la formazione di Granuli da Stress (GS) per studiarne il differente comportamento in condizioni di stress.

Infine, queste tre linee di fibroblasti sono state differenziate con successo in cellule pluripotenti indotte, che verranno successivamente differenziate in motoneuroni che saranno utilizzati per ulteriori analisi.

La comprensione della fisiopatologia della proteina mutante sarà di grande aiuto nella comprensione della fisiopatologia della SLA, sia sporadica che genetica, dal momento che la proteina TDP-43 gioca un ruolo importante in entrambe le forme della malattia.

Data di inizio progetto: 20 luglio 2020

Data di fine progetto: 31 dicembre 2021

VOCI DI SPESA	COSTO COMPLESSIVO	QUOTA FINANZIATA CON FONDI 5 PER MILLE
Personale di ricerca (borsista, a contratto e di ruolo in quota parte)	€ 25.000,00	€ 10.000,00
Apparecchiature (ammortamento, canone di locazione/leasing)		
Materiale d'uso destinato alla ricerca (per laboratori di ricerca, ecc.)	€ 25.000,00	€ 10.000,00
Spese di organizzazione (manifestazioni e convegni, viaggi, missioni ecc.)	€ 8.000,00	€ 3.200,00
Elaborazione dati		
Spese amministrative	€ 2.000,00	€ 800,00
Altro (indicare quali)		
TOTALE	€ 60.000,00	€ 24.000,00

Data 26 ottobre 2021

Il Legale Rappresentante


Si autorizza al trattamento dei dati ai sensi del d.lgs. 196/2003

Il Legale Rappresentante

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Carlo Calcegi". The signature is written in a cursive style with a prominent initial 'C'.