

***“Comparative analysis of FA patient iPSC-derived retinal, sensory and cortical neurons and reactivation of the silenced Frataxin gene with an epigenetic approach”***

Tipo di ricerca: Studio pre-clinico

**Responsabile:**

**Dr. Vania Broccoli**

CNR-Institute of Neuroscience, Milan – IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano

Costo globale del Progetto 320.000 €, durata 2 anni (Aprile, 2022 – Aprile, 2024)

***Riassunto***

L'ataxia di Friedreich (FA) è una malattia neurodegenerativa ereditaria che causa lo sviluppo di atassia progressiva dell'andatura e degli arti, disartria, perdita dei riflessi tendinei, segni piramidali e scoliosi accompagnati da cardiomiopatia e diabete mellito. In alcuni casi i pazienti mostrano significativa perdita della vista dovuto ad atrofia ottica e deficit dell'udito. Gran parte degli studi dei meccanismi patologici di questa malattia si sono focalizzati sulla degenerazione dei neuroni cerebellari e sensitivi dei gangli dorsali. Molto meno è conosciuto delle cause alle base delle disfunzioni visive e della degenerazione nei neuroni della retina. Il nostro gruppo ha generato cellule staminali riprogrammate (cellule iPSC) da 2 pazienti con moderati o severi sintomi neurologici di FA con, rispettivamente, breve o più estesa espansione del tratto GAA nel gene di Fratassina. In questo progetto le cellule iPSC verranno differenziate in neuroni della retina, sensitivi dei gangli dorsali e della corteccia cerebrale per studiare le alterazioni patologiche cellulari e dei mitocondri. Questa analisi comparativa ci permetterà di capire i meccanismi patologici per cui neuroni di classe diverse risultano più sensibili (neuroni sensitivi dei gangli dorsali e neuroni della retina) o più resistenti (neuroni della corteccia cerebrale) all'inattivazione del gene Fratassina. La seconda parte del progetto è finalizzata alla generazione di sistemi di "gene editing" con la proteina Cas9 con lo scopo di riattivare il gene silenziato di Fratassina con meccanismi epigenetici. Con questa modalità si possono rimuovere le modifiche della cromatina che silenziano il gene inducendo la riattivazione del suo promotore e la riespressione del gene stesso. Questa strategia ha il vantaggio di attivare il gene endogeno con i suoi stessi livelli di espressione, evitando così effetti collaterali causati dall'overespressione del gene come può avvenire nel caso di alcuni approcci di terapia genica tradizionale. L'efficacia di questo sistema verrà valutata dalla capacità di riattivare il gene Fratassina nei fibroblasti dei pazienti e nel modello di topo della malattia. Verrà anche analizzato se la riattivazione di Fratassina sarà capace di recuperare e fino a quale livello i difetti cellulari e mitocondriali presenti nelle cellule iPSC dei pazienti.

Questo progetto si prefigge di acquisire nuove conoscenze sui meccanismi patologici di FA utilizzando cellule staminali dei pazienti per generare varie classi di neuroni diversamente affetti dalla malattia. In più verranno sviluppati dei nuovi strumenti molecolari che possono essere impiegati per riattivare il gene Fratassina silenziato nella malattia e, quindi, diventare una nuova opzione terapeutica di medicina di precisione per FA.