

Dal Danno al Rinnovamento

**Indurre la Mitofagia per Correggere i Difetti
Mitocondriali nell'ARSACS**

PROGETTO SEED - FONDAZIONE TELETHON

ARSACS - Atassia Spastica Autosomica Recessiva di Charlevoix-Saguenay



- ⌘ Genetica: Mutazioni gene SACSINA →
Mancata produzione della proteina
- 🧠 Patogenesi: Morte dei neuroni di Purkinje
- 🚶 Clinica: Atassia e spasticità

- Funzione fisiologica SACSINA
- Meccanismo molecolare: cosa porta alla morte neuronale?
- Perché specifico su certi neuroni?
- CURA

CONTROLLO QUALITA' MITOCONDRIALE SBILANCIATO

- Forma mitocondri anomala
- Problemi nel «movimento» dei mitocondri
- Accumulo di mitocondri non funzionanti



I Mitochondri: Le centrali energetiche



- ⚡ **Produzione di Energia:** Trasformano i nutrienti e l'ossigeno in ATP, il "carburante" universale della vita.
- 📦 **Sostegno ai Neuroni:** I neuroni sono le cellule più affamate di energia; senza batterie cariche, il cervello smette di comunicare.
- 🧠 **Funzione Cerebrale:** Alimentano il pensiero, la memoria e, soprattutto, il controllo del movimento.

Se i mitocondri funzionano male i neuroni entrano in crisi energetica, non sono più in grado di fare le loro funzioni bene e alla fine muoiono

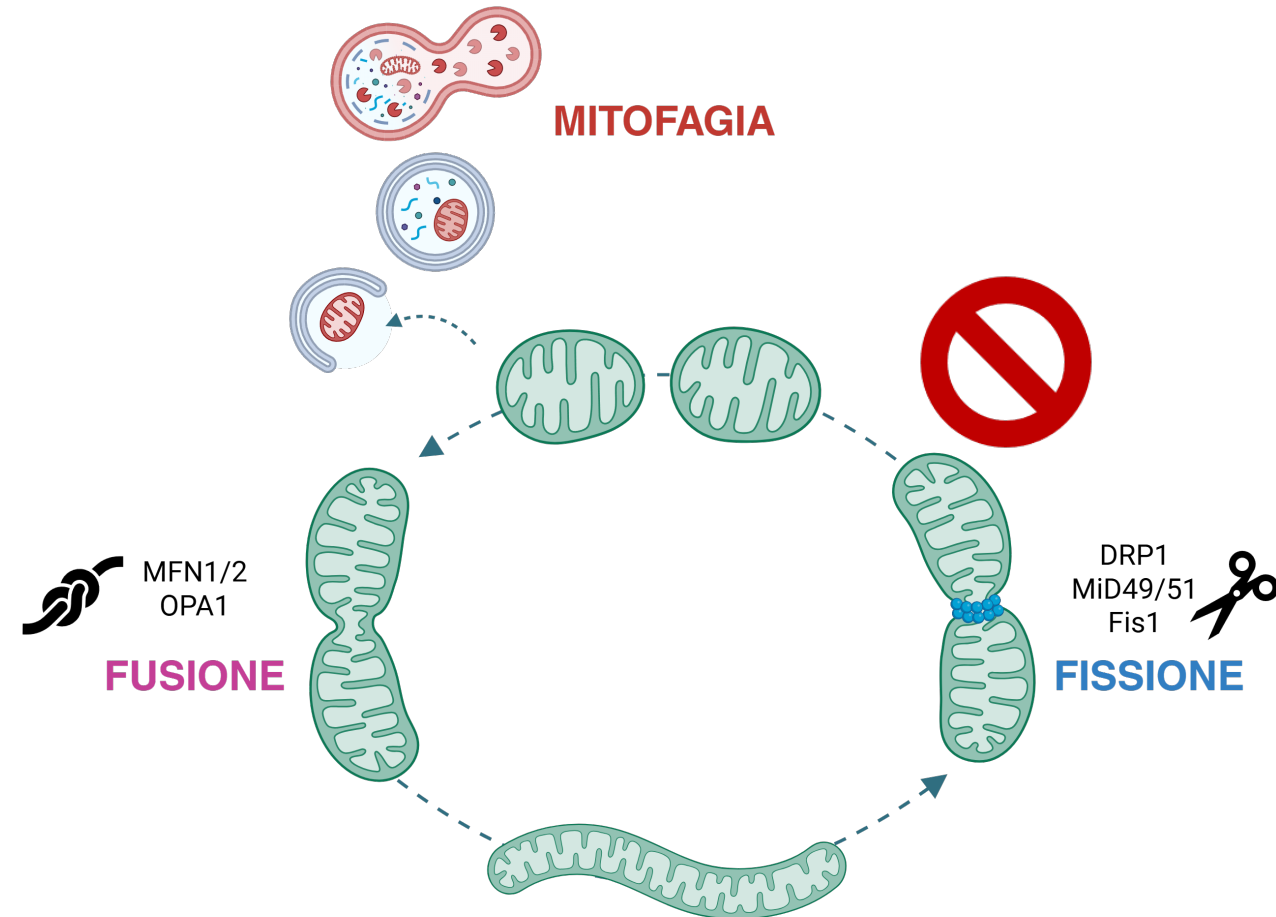
Il Ciclo Vitale dei Mitochondri

I mitocondri non sono strutture statiche, ma formano una **rete dinamica** in continuo cambiamento. Questo processo è vitale per:

Controllo Qualità: Isolamento e rimozione di mitocondri danneggiati (mitofagia).

Ottimizzazione Energetica: Scambio di componenti e massimizzazione della produzione di ATP.

Risposta allo Stress: Adattamento della morfologia alle necessità metaboliche della cellula.






La Mitofagia : L'arte del Riciclo

Il Sistema di Controllo Qualità dei Mitocondri

La mitofagia deriva dal greco phageîn (φαγεῖν), che significa "mangiare"

è il processo naturale con cui la cellula identifica, isola e distrugge i mitocondri vecchi e/o danneggiati.

-  • **Rimozione dei Rifiuti:** Impedisce che i mitocondri "rotti" accumulino sostanze tossiche e danneggino la cellula.
-  • **Rinnovamento:** Una volta eliminato il vecchio, la cellula è spinta a produrre nuovi mitocondri sani ed efficienti.
-  • **Protezione:** Questo processo è particolarmente importante nei neuroni dove funziona come un team di manutenzione che mantiene il cervello giovane e reattivo.



ARSACS: LA REAZIONE A CATENA

Ecco come la mancanza di **Sacsina** porta alla perdita dei neuroni:



La nostra soluzione: Incrementando la mitofagia, vogliamo spezzare questa catena, riattivando il riciclo di mitocondri e salvando i neuroni.

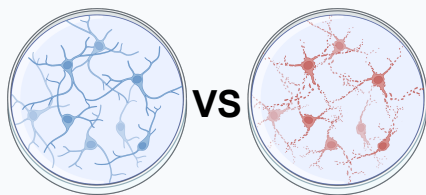
Obiettivi del Progetto

OBIETTIVO 1



MECCANISMO

Definire come la perdita di Sacsina porta al blocco della mitofagia attraverso un'analisi proteomica e biochimica



Trovare differenze tra neuroni sani e malati per aiutarci a capire meglio la malattia

OBIETTIVO 2



TERAPIA

Testare se l'induzione farmacologica della mitofagia può riattivare il Sistema di "pulizia" dei neuroni senza Sacsina e salvarli



Il nostro Piano

TRIMESTRE 1



Costruzione

Generazione dei tool cellulari per ricreare in laboratorio la patologia dei pazienti.

TRIMESTRE 2



Identificazione

Mappatura del danno per capire esattamente dove e perchè si blocca il sistema di "riciclo" dei mitocondri.

TRIMESTRE 3



Sperimentazione

Testare l'efficacia di molecole per riattivare la pulizia dei mitocondri compromessi in modelli cellulari che mimano la malattia.

TRIMESTRE 4



Validazione

Verifica del ripristino dell'energia cellulare e della sopravvivenza dei neuroni trattati.

Gli strumenti del mestiere – I Modelli Cellulari

SH-SY5Y

- Linea cellulare immortalizzata di neuroblastoma umano
- Mantenimento semplice e costi di gestione ridotti
- Elevata capacità proliferativa → grandi quantità di materiale biologico in tempi brevi
- Manipolazione genetica relativamente semplice
- Ampiamente utilizzati come modello per lo studio dell'ARSACS



- Utilizzate per studi preliminari in cui servono grandi quantità di materiale (proteomica e screening biochimico iniziale)

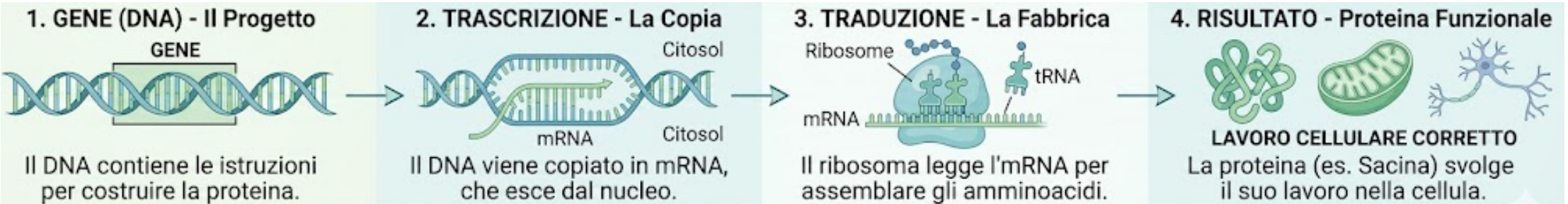
iNeurons

- Neuroni differenziati direttamente da cellule staminali umane
- Mantenimento più complesso e maggiori costi di gestione
- Non proliferano → quantità di materiale biologico più limitate
- Manipolazione genetica complessa
- Modello che mima più fedelmente ciò che accade nel cervello



- Utilizzate per validare risultati ottenuti su SH-SY5Y riguardo al meccanismo molecolare
- Utilizzate per verificare se il trattamento con il “farmaco” funziona

Gli strumenti del mestiere – I Modelli Cellulari



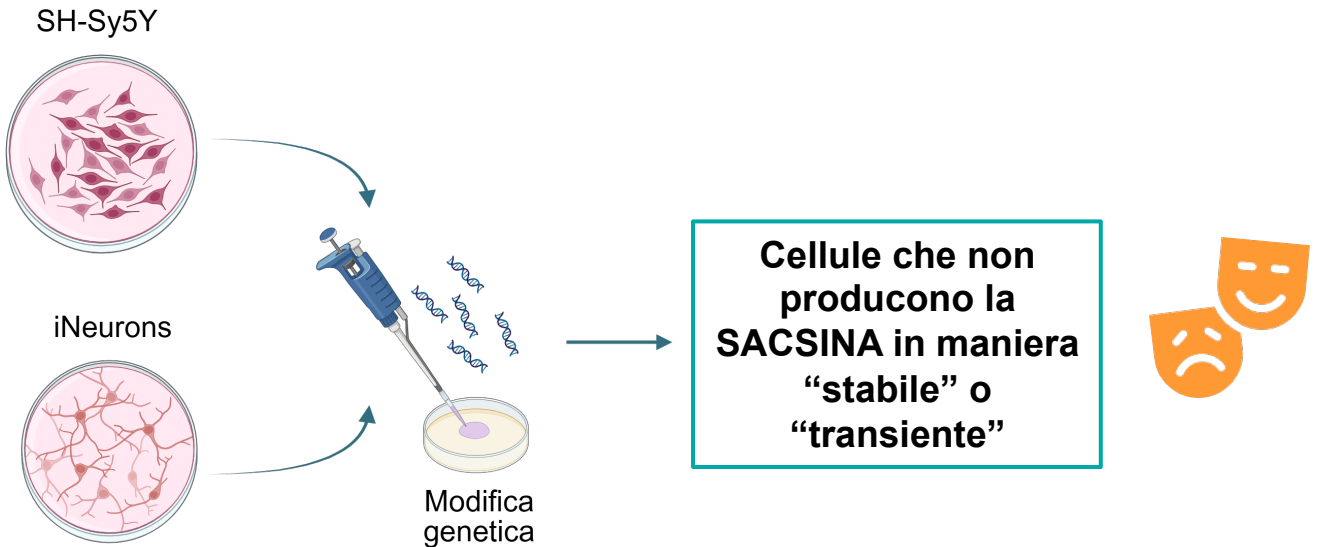
Alcune lettere del gene della Sacina sono scritte in modo errato (mutazioni)

Gli errori vengono mantenuti anche durante il processo di copia

A causa di questi errori il "traduttore" non capisce la parola e non riesce a tradurla

SACSINA NON VIENE PRODOTTA

COME MIMARE LA MALATTIA?



Gli strumenti del mestiere – Le molecole pro mitofagia

Inibitori di USP14

Esiste una proteina chiamata **USP14** che agisce come un "freno" per la pulizia dei mitocondri.

Se inibiamo questo freno, costringiamo la cellula a eliminare i mitocondri danneggiati e a produrne di nuovi andando a impedire la morte dei neuroni



► EMBO Mol Med. 2018 Sep 24;10(11):e9014. doi: [10.15252/emmm.201809014](https://doi.org/10.15252/emmm.201809014)

USP14 inhibition corrects an *in vivo* model of impaired mitophagy

[Joy Chakraborty](#)¹, [Sophia von Stockum](#)², [Elena Marchesan](#)², [Federico Caici](#)¹, [Vanni Ferrari](#)¹, [Aleksandar Rakovic](#)³, [Christine Klein](#)³, [Angelo Antonini](#)⁴, [Luigi Bubacco](#)¹, [Elena Ziviani](#)^{1,2,✉}





Pharmacological Research

Volume 210, December 2024, 107484



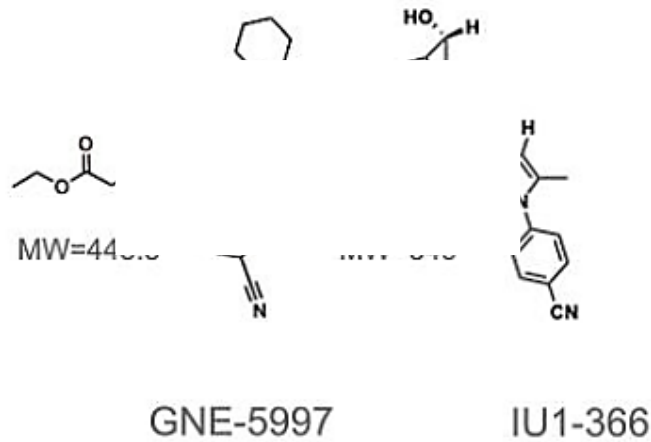
USP14 inhibition enhances Parkin-independent mitophagy in iNeurons

[Greta Bernardo](#)^a, [Miguel A. Prado](#)^{b,c}, [Anna Roshani Dashtman](#)^a, [Mariavittoria Favaro](#)^a, [Sofia Mauri](#)^a, [Alice Borsetto](#)^a, [Elena Marchesan](#)^a, [Joao A. Paulo](#)^b, [Steve P. Gygi](#)^b, [Daniel J. Finley](#)^b, [Elena Ziviani](#)^a  

Abbiamo dimostrato che l'inibizione di USP14 aumenta la mitofagia e migliora modelli *in vivo* e *in vitro* di neurodegenerazione

Gli strumenti del mestiere – Le molecole pro mitofagia

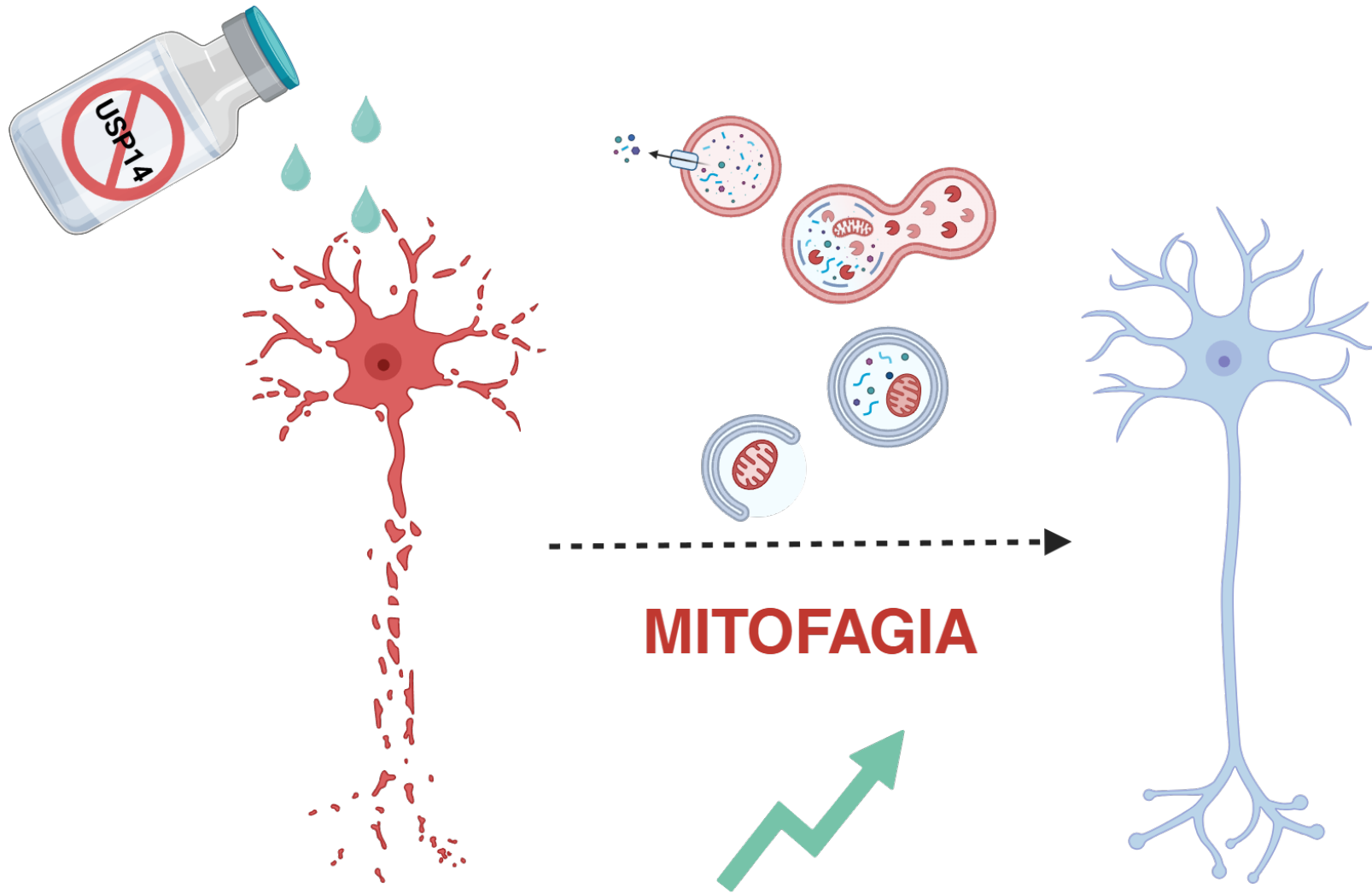
Nuovi Inibitori di USP14



- ✓ **Piccole molecole** facilmente producibili
- ✓ Estremamente **Specifici** → Colpisce solo bersaglio desiderato senza effetti collaterali
- ✓ **Potenti** → bassa dose necessaria per ottenere l'effetto
- ✓ Possono oltrepassare la **barriera ematoencefalica** → adatti come terapia per malattie neurodegenerative

Già testato su iNeurons!!

- Non tossico
- Induce mitofagia con dosi basse



Impatti Attesi



Scienza

Chiarire il ruolo della Sacsina nel controllo qualità mitocondriale e come questo impatta la salute dei neuroni



Cura

Validare una molecola pronta per i trial clinici che sia in grado di migliorare il controllo qualità mitocondriale e di conseguenza bloccare la morte neuronale nei pazienti

Un Seme per sconfiggere la malattia

Questo è un Seed Project: la nostra ambizione è che questo seme germogli in un albero e che ogni dato raccolto oggi sia una radice per la terapia di domani.



Lab Ziviani UNIPD

Prof. Elena Ziviani

Dott. Sofia Mauri

Dott. Mariavittoria Favaro

Dott. Alice Borsetto

Dott. Raffaele Montuoro



HARVARD
UNIVERSITY



Collaborators:

Lab Prof. Daniel Finley
(Department of Cell
Biology, Harvard
Medical School)

Domande?

Il futuro dei pazienti ARSACS passa per la salute dei mitocondri.