



SEASON TWO
7 Aprile 2022

Identificazione di molecole ad azione protettiva dei danni indotti da ischemia/riperfusion nella donazione dei cuori dopo morte circolatoria

Cristina Algieri¹, Alberto Elmi², Domenico Ventrella², Fabiana Trombetti¹, Salvatore Nesci¹, Maria Laura Bacci²

¹ DIMEVET - Servizio di Bioscienze e Biotecnologie

² DIMEVET - Servizio di Anatomia e Fisiologia

Background – I pazienti con insufficienza cardiaca allo stadio terminale necessitano del trapianto di cuore [1] ricevuto da un donatore dopo morte cerebrale. Al fine di aumentare la disponibilità di organi, si sta valutando la possibilità di utilizzare cuori derivanti da donatori dopo morte cardiocircolatoria (DCD) [2]. Gli eventi di ischemia/riperfusion (I/R), associati a DCD, aumentano la produzione di ROS e il Ca^{2+} nel mitocondrio. Questi stimolano la formazione del poro di transizione della permeabilità mitocondriale (mPTP), da cui insorge la morte cellulare regolata [3]. L' F_1F_0 -ATPasi mitocondriale è il principale costituente del mPTP quando lo ione Ca^{2+} sostituisce il cofattore naturale Mg^{2+} e attiva l'enzima [4-5]. L'identificazione di specifiche molecole che riducono i danni da I/R nei cuori DCD, bloccando l' F_1F_0 -ATPasi attivata dal Ca^{2+} , potrebbero contrastare l'apertura del mPTP. Approcci di "Selective Drug Delivery" hanno un particolare interesse applicativo nel migliorare le condizioni dei cuori DCD. Gli esosomi, infatti, possono veicolare in modo tessuto-specifico i farmaci.

Scopo del lavoro – L'idea progettuale si prefigge di identificare in studi *in-vitro* molecole capaci di interagire specificatamente con l' F_1F_0 -ATPasi mitocondriale e inibire l'attività catalitica quando attivata dal Ca^{2+} , per prevenire l'apertura del mPTP e di conseguenza i processi di morte cellulare. Mediante l'ausilio di esosomi si prevede di veicolare nei cardiomiociti di suino, impiegato come animale modello per DCD, le molecole risultate efficaci nelle prove *in-vitro*. Successivamente, sul cuore espantato si valuteranno in *ex-vivo* gli effetti protettivi dai danni da I/R a livello mitocondriale.

Materiali e metodi – Specifiche molecole (triazoliche e/o pirazoliche) saranno selezionate da indagini di relazione struttura-attività sull' F_1F_0 -ATPasi mitocondriale di cuore suino valutandone gli effetti sulla catalisi enzimatica sostenuta dal Ca^{2+} . Le molecole selezionate saranno caricate negli esosomi, mediante elettroporazione/incubazione, e iniettate nel cuore dell'animale sottoposto a DCD. Dal cuore espantato si provvederà ad isolare i mitocondri e confermare l'effetto protettivo attraverso lo studio della capacità di ritenzione del calcio mitocondriale, la cui riduzione indica l'apertura del mPTP, e dei parametri bioenergetici mitocondriali correlati alla funzionalità d'organo.

Risultati – I risultati attesi da questo studio sono:

- identificare molecole capaci di interagire con l' F_1F_0 -ATPasi mitocondriale attivata dal Ca^{2+} ;
- incorporare le molecole negli esosomi mediante elettroporazione/incubazione per veicolarle verso il cuore dei suini sottoposti a DCD;
- verificare nei cuori DCD espantati la protezione dai danni indotti dall'apertura del mPTP.

Conclusioni – L'identificazione di molecole con effetti protettivi sulla morte cellulare causata dall'apertura del mPTP nei mitocondri di cuori DCD garantisce valori di endpoints efficaci per la trapiantologia.

Bibliografia

[1] Donna Mancini, et al. Selection of cardiac transplantation candidates in 2010, *Circulation*, 13;122(2):173-83, 2010.

[2] Robert M. Sade. BRAIN DEATH, CARDIAC DEATH, AND THE DEAD DONOR RULE, *J S C Med Assoc.*, 107(4): 146-149, 2011.

[3] Edward J. Lesnefsky, et al. Mitochondrial Dysfunction and Myocardial Ischemia-Reperfusion: Implications for Novel Therapies, *Annu Rev Pharmacol Toxicol.*, 6;57:535-565, 2017.

[4] Cristina Algeri, et al. Mitochondrial Ca²⁺-activated F₁F₀-ATPase hydrolyzes ATP and promotes the permeability transition pore, Ann N Y Acad Sci, 1457(1):142-157, 2019.

[5] Vilmante Borutaite, et al. Inhibition of mitochondrial permeability transition prevents mitochondrial dysfunction, cytochrome c release and apoptosis induced by heart ischemia, J Mol Cell Cardiol., 35(4):357-66, 2003.

Indicare, apponendo una "X":

▪ La **casata** di appartenenza

One Health

Blue Growth

Fundamental Sciences

Clinical Sciences

Animal Production

▪ La **tipologia** del proprio progetto

Individual Research

Team Work

Travelling Scientists