



ISTITUTO DI RICERCHE
FARMACOLOGICHE
MARIO NEGRI · IRCCS

REPORT ATTIVITÀ 2021

INDICE

L'istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri IRCCS	pg 03
Struttura e organigramma	pg 05
Dipartimenti e laboratori	pg 06
Relazione sulle principali attività di ricerca dell'Istituto Mario Negri	pg 21
Selezione pubblicazioni scientifiche 2021	pg 60
Attività formative 2021	pg 68

Sede Legale

Mario Negri Milano

Via Mario Negri, 2 - 20156 Milano

Tel. +39 02 390141

Centro di Ricerche Cliniche per le Malattie
Rare "Aldo e Cele Daccò"

Villa Camozzi

Via G.B. Camozzi, 3 - 24020 Ranica (BG)

Centro Anna Maria Astori

Parco Scientifico Tecnologico

Kilometro Rosso

Via Stezzano, 87 - 24126 Bergamo

marionegri.it

L'ISTITUTO DI RICERCHE FARMACOLOGICHE MARIO NEGRI IRCCS

L'Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri è un'organizzazione scientifica che opera nel campo della ricerca biomedica.

È stato costituito giuridicamente nel 1961 e ha iniziato le attività nella sede di Milano il 1° febbraio 1963.

Scopo fondamentale delle attività dell'Istituto è contribuire alla difesa della salute e della vita umana.

Per realizzare tale obiettivo, occorre anzitutto approfondire la comprensione dei meccanismi di funzionamento degli organismi viventi, individuare le ragioni per cui insorgono le malattie, conoscere i processi che si sviluppano negli organismi stessi in seguito all'introduzione di sostanze estranee: è in questo senso che si sviluppano le ricerche dell'Istituto, dal livello molecolare fino all'individuo e alle popolazioni.

I risultati che ne emergono servono sia per la messa a punto di nuovi farmaci che per accrescere l'efficacia di quelli già in uso.

Le aree di ricerca

I principali settori in cui l'Istituto è impegnato sono:

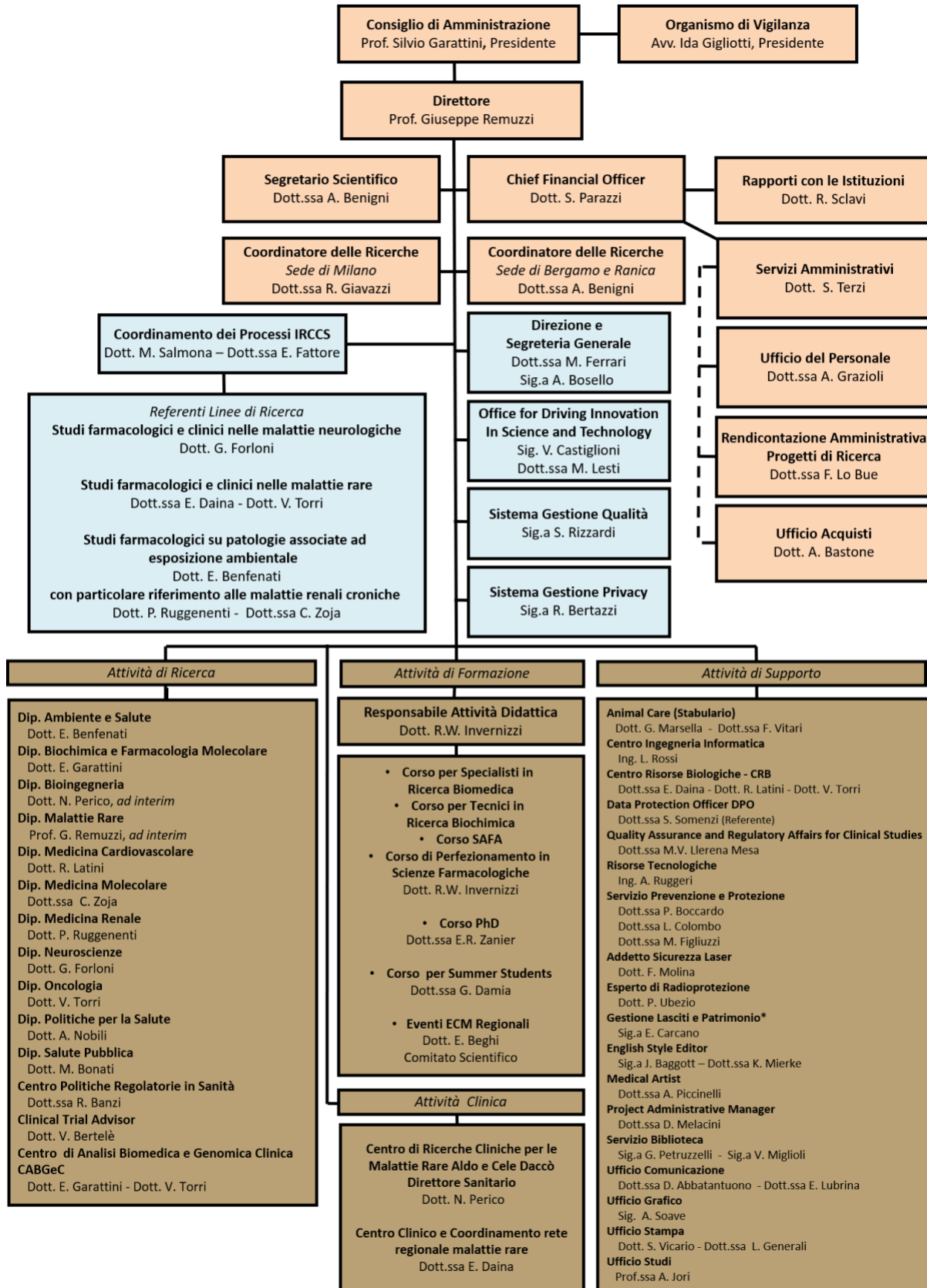
- la lotta contro il cancro
- le malattie nervose e mentali
- le malattie del cuore e dei vasi sanguigni
- le malattie renali
- i trapianti
- le malattie rare
- la salute pubblica
- gli effetti tossici delle sostanze che inquinano l'ambiente
- la lotta contro il dolore
- lo studio delle droghe
- la salute materno-infantile

La formazione e la diffusione della cultura scientifica

Oltre alla ricerca scientifica, l'Istituto svolge anche l'attività di insegnamento per la formazione professionale di tecnici di laboratorio e di ricercatori laureati, conferendo degli attestati di qualificazione professionale e dei diplomi di dottorato di ricerca in collaborazione con il MIUR, di PhD in collaborazione con la Open University (UK).

L'istituto contribuisce con molteplici iniziative alla diffusione della cultura scientifica in campo biomedico, sia allo scopo di migliorare la pratica sanitaria sia per l'uso più appropriato dei farmaci.

STRUTTURA E ORGANIGRAMMA



DIPARTIMENTI & LABORATORI

Presso l'Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri IRCCS sono attivi 10 Dipartimenti:

- 6 ubicati presso la sede di Milano
- 4 ubicati presso le sedi di Bergamo e Ranica (BG).

Segue l'elenco dei dipartimenti.

1. Dipartimento di Ambiente e Salute
2. Dipartimento di Biochimica e Farmacologia Molecolare
3. Dipartimento di Bioingegneria
4. Dipartimento di Malattie Rare
5. Dipartimento di Medicina Cardiovascolare
6. Dipartimento di Medicina Molecolare
7. Dipartimento di Medicina Renale
8. Dipartimento di Neuroscienze
9. Dipartimento di Oncologia
10. Dipartimento di Salute Pubblica

DIPARTIMENTO DI AMBIENTE E SALUTE

Capo Dipartimento: Emilio Benfenati

Il dipartimento si occupa di identificare e prevenire l'effetto negativo dei fattori ambientali sulla salute.

In particolare si dedica a identificare l'esposizione della popolazione alle sostanze chimiche e a valutarne il rischio utilizzando studi di tossicità in silico e in vitro, tecniche analitiche di spettrometria di massa e di epidemiologia. Successivamente, si sviluppano strategie per ridurre gli impatti, anche attraverso la sostituzione delle sostanze che possono risultare maggiormente a rischio-

Si studiano anche gli effetti dei farmaci diffusi nell'ambiente e i consumi di droghe di abuso attraverso la loro identificazione e misura nelle acque reflue urbane.

Obiettivi

- Misurare le emissioni di inquinanti di origine antropogenica (inquinamento atmosferico, rifiuti, sostanze in alimenti, etc.) e valutarne l'effetto sulla salute individuando strategie per minimizzarne l'impatto
- Identificare, quantificare e prevenire l'impatto di fattori ambientali sulla salute, in particolare l'esposizione a fumo di tabacco, vapore delle sigarette elettroniche, sostanze chimiche, alcol e stili di vita, inclusi l'alimentazione e i nutrienti come fattori di rischio per lo sviluppo di malattie croniche, quali tumori, malattie cardiovascolari, diabete e obesità, ma anche di disturbi come l'acufene
- Condurre studi per valutare l'impatto della pandemia da COVID-19 sugli stili di vita e il benessere psicologico della popolazione Italiana
- Studiare i meccanismi molecolari alla base di malattie umane attraverso l'identificazione di alterazioni del proteoma e del metaboloma indotte da stati patologici
- Sviluppare modelli in silico e in vitro per la valutazione del rischio tossicologico ed ecotossicologico delle sostanze chimiche
- Sviluppare modelli in silico e in vitro a supporto della valutazione del rischio tossicologico ed ecotossicologico causato da sostanze chimiche, farmaci, cosmetici e sostanze negli alimenti per promuovere l'individuazione di alternative più sostenibili
- Applicare l'approccio "wastewater-based epidemiology", per stimare i consumi di droghe d'abuso, nicotina, alcool, e farmaci nella popolazione misurando specifici marcatori metabolici nelle acque di scarico urbane, e sviluppare nuove applicazioni per studiare indici dello stato di salute della popolazione quali la diffusione del virus SARS-CoV-2 e di

resistenza agli antibiotici.

- Sviluppare tecniche avanzate di spettrometria di massa (imaging) per studiare la penetrazione di farmaci antitumorali negli xenotrapianti di tumori, per lo studio del farmacometabolismo e del metabolismo in generale in microambienti tissutali.

Laboratori

1. Laboratorio Tossicologia della Nutrizione
2. Laboratorio Chimica e Tossicologia dell'Ambiente
3. Laboratorio Spettrometria di Massa
4. Laboratorio Epidemiologia degli Stili di Vita

Centro di Ricerca “Spettrometria di Massa per la salute e l’Ambiente”

Il Centro promuove e facilita, con le tecnologie di spettrometria di massa, una ricerca interdisciplinare per la salute e l’ambiente

DIPARTIMENTO DI BIOCHIMICA E FARMACOLOGIA MOLECOLARE

Capo Dipartimento: Mario Salmona

La ricerca del **Dipartimento di Biochimica e Farmacologia Molecolare** è mirata allo **studio strutturale e funzionale di prodotti genici specifici e farmacologicamente rilevanti**.

Uno degli obiettivi è l'identificazione di nuove proteine che potrebbero rappresentare dei bersagli per la terapia farmacologica.

Le potenziali interazioni tra farmaci e proteine sono studiate anche a livello molecolare, utilizzando un'ampia varietà di approcci che vanno dagli studi condotti sugli animali a simulazioni computazionali.

Obiettivi

- Sviluppo di strategie farmacologiche efficaci mediante studi farmacologici e funzionali (farmacocinetica/farmacodinamica), riposizionamento dei farmaci, terapia con peptidi, approcci multiomici e machine learning nel processo di stratificazione dei pazienti, come elemento critico per l'implementazione della medicina personalizzata, nanoparticelle in nanomedicina e nanodiagnostica, agenti differenzianti per il trattamento personalizzato del cancro al seno e allo stomaco, analisi dei recettori nucleari come bersaglio farmacologico in oncologia, analisi delle interazioni molecolari
- Identificazione di bersagli molecolari di patologie mediate da proteine (malattie con base genetica e malattie causate da proteine con struttura aberrante)
- Identificazione di marcatori proteici in fluidi biologici, cellule, tessuti e vescicole extracellulari in pazienti e modelli animali

Laboratori

1. Laboratorio Biochimica e Chimica delle Proteine
2. Laboratorio Biologia Molecolare
3. Laboratorio Patologia Umana in Organismi Modello
4. Laboratorio Trasduzione del Segnale
5. Laboratorio Biomarcatori Traslazionali
6. Laboratorio Studio dei Sistemi Biologici
7. Laboratorio Farmacodinamica e Farmacocinetica

DIPARTIMENTO DI BIOINGEGNERIA

Capo Dipartimento: Norberto Perico

Il Dipartimento di Bioingegneria svolge attività di ricerca a livello sperimentale e clinico. All'interno del Dipartimento si studiano **processi fisiopatologici mediante l'impiego di tecniche ingegneristiche** e si sviluppano **strategie terapeutiche innovative**.

Obiettivi

- Capire i meccanismi coinvolti nella progressione delle nefropatie croniche
- Comprendere il ruolo dell'emodinamica nello sviluppo del danno vascolare
- Sviluppare tecniche di laboratorio per l'ingegneria dei tessuti
- Sviluppare sistemi informativi per studi clinici controllati e pratica clinica

Laboratori

1. Laboratorio Biofisica Renale
2. Laboratorio Ingegneria dei Tessuti per la Medicina Rigenerativa
3. Laboratorio Tecnologie Biomediche

DIPARTIMENTO DI MALATTIE RARE

Capo Dipartimento: Giuseppe Remuzzi

Il Dipartimento di Malattie Rare si occupa di patologie che hanno una prevalenza non superiore ad 1 caso ogni 2.000 abitanti nella popolazione generale. L'Organizzazione Mondiale della Sanità stima che vi siano circa 7.000 malattie rare, di cui la grande maggioranza di origine genetica. Si tratta di patologie molto eterogenee che coinvolgono praticamente tutte le aree di interesse medico.

L'attività del Dipartimento si concretizza grazie a progetti multidisciplinari che spaziano dalla ricerca di base a quella epidemiologica, alla ricerca clinica, accompagnati da un forte impegno nel campo della divulgazione e della formazione di giovani ricercatori.

Il primo passo nel 1992 – verificata la scarsità all'epoca di informazioni sulle malattie rare - è consistito nella creazione di un servizio di informazione rivolto ai pazienti, ai loro familiari e agli operatori sanitari con la costituzione di una banca-dati sulle malattie rare. Sono state successivamente individuate aree di intervento specifico con la messa a punto di competenze diagnostiche di livello avanzato che consentissero la identificazione di nuovi geni malattia, il chiarimento di meccanismi patogenetici e lo studio di potenziali trattamenti.

L'interesse del Dipartimento è oggi concentrato su alcune forme di microangiopatia trombotica, di malattie renali rare e di patologie del sistema immune, e si esprime con la messa a punto di modelli di ricerca potenzialmente utilizzabili anche in molte altre condizioni.

Tra le attività svolte, il Coordinamento dal 2001 della Rete regionale malattie rare della Lombardia, in collaborazione con il Centro Nazionale Malattie Rare dell'Istituto Superiore di Sanità.

Obiettivi

- Favorire la disponibilità di informazioni aggiornate sulle malattie rare
- Promuovere l'avanzamento delle conoscenze
- Raccogliere casistiche significative e funzionali allo sviluppo di progetti di ricerca clinica
- Studiare le basi molecolari di alcune malattie
- Caratterizzare le alterazioni biochimiche e genetiche per lo sviluppo di terapie mirate
- Testare l'impiego di nuovi farmaci mediante la realizzazione di trials clinici
- Contribuire allo sviluppo della Rete nazionale dedicata alle malattie rare ed al collegamento con le Reti europee (European Reference Networks, ERNs)

Laboratori

- 1.Documentazione e Ricerca sulle Malattie Rare
- 2.Sviluppo Collaborazioni Malattie Rare
- 3.Laboratorio Immunologia e Genetica delle Malattie Rare

DIPARTIMENTO DI MEDICINA CARDIOVASCOLARE

Il **Dipartimento di Medicina Cardiovascolare** è impegnato in attività di ricerca che coprono sia l'area sperimentale e di ricerca di base, sia quella della **valutazione clinica ed epidemiologica di farmaci, di strategie diagnostico-terapeutiche, di fattori di rischio delle malattie cardiovascolari.**

Obiettivi:

- Migliorare il controllo dei fattori di rischio cardiovascolari e gli stili di vita
- Valutare l'efficacia di nuovi farmaci nell'ambito della prevenzione cardiovascolare
- Valutare la reale trasferibilità degli interventi preventivi di provata efficacia nella pratica clinica quotidiana
- Descrivere l'epidemiologia e la farmaco-epidemiologia delle malattie cardiovascolari
- Migliorare i trattamenti di pazienti con insufficienza cardiaca e diabete o altre comorbidità
- Valutare l'efficacia di un betabloccante in una malattia rara, angiomi cavernosi cerebrali familiari (CCM)
- Verificare i benefici di un trattamento cronico con betabloccante in pazienti reduci da infarto miocardico, con contrattilità cardiaca conservata
- Valutare in modelli sperimentali la interazione tra insufficienza cardiaca e cancerogenesi
- Verificare l'efficacia di albumina umana nello shock settico e comprendere i meccanismi dell'eventuale beneficio attraverso lo studio di molecole circolanti
- Sviluppare nuove strategie di trattamento nell'ambito dell'arresto cardiaco e della rianimazione cardiopolmonare; in particolare, l'attività di ricerca si propone di verificare l'efficacia di nuove metodologie di defibrillazione e di nuovi interventi neuro-protettivi come l'argon, valutandone l'efficacia attraverso studi clinici randomizzati, e studiando i meccanismi alla base del danno cerebrale dopo rianimazione post-arresto cardiaco attraverso la sperimentazione pre-clinica.

Laboratori

1. Laboratorio Farmacologia Clinica Cardiovascolare
2. Laboratorio Fisiopatologia Cardiopolmonare
3. Laboratorio Prevenzione Cardiovascolare

DIPARTIMENTO DI MEDICINA MOLECOLARE

Capo Dipartimento: Carlamaria Zoja

La ricerca del dipartimento di Medicina Molecolare è strettamente collegata a quella del dipartimento di Medicina Renale ed ha come scopo la **comprensione dei meccanismi di danno che portano alla perdita della funzione del rene nelle malattie renali croniche**, e la **messa a punto di strategie** che evitino ai pazienti di dover ricorrere alla dialisi o al trapianto.

Obiettivi

- **Identificazione di mediatori e di meccanismi d'azione responsabili della perdita di funzionalità renale** nelle malattie renali
- **Sviluppo di strategie terapeutiche farmacologiche, cellulari e molecolari** per rallentare la progressione della malattia renale verso l'insufficienza renale terminale e indurre regressione del danno cronico al rene
- **Studio dei meccanismi di rigenerazione del rene** indotta da terapie renoprotettive e identificazione di progenitori renali.
- **Generazione di unità funzionanti di rene** a partire da cellule embrionali isolate
- **Generazione di cellule staminali pluripotenti indotte (iPS) da pazienti con malattie rare** e sviluppo di protocolli differenziativi di iPS verso un fenotipo renale
- **Correzione della mutazione genica in iPS di pazienti con malattie rare mediante tecnica CRISPR/Cas9**
- **Analisi dei meccanismi e dei fattori responsabili della perdita di tromboresistenza dell'endotelio** nelle microangiopatie trombotiche
- **Sviluppo di nuove strategie, tra cui la terapia genica, per modulare la risposta immunitaria post-trapianto** e per prevenire il rigetto acuto e cronico del trapianto d'organo; studio di possibili vie immunologiche che portino alla tolleranza dell'organo trapiantato
- **Sviluppo di strategie di terapia genica per la cura di malattie rare genetiche**

Laboratori

1. Laboratorio Biologia Cellulare e Medicina Rigenerativa
2. Lab. Fisiopatologia delle Malattie Renali ed Interazione con altri Sistemi
3. Laboratorio Terapia Genica e Riprogrammazione Cellulare
4. Laboratorio Immunologia del Trapianto
5. Laboratorio Organ Regeneration

DIPARTIMENTO DI MEDICINA RENALE

Capo Dipartimento: Piero Ruggenti

Il Dipartimento di Medicina Renale si dedica principalmente allo studio dei **meccanismi di progressione delle nefropatie croniche** e alla definizione di nuove strategie di prevenzione/trattamento della nefropatia diabetica, delle nefropatie croniche non diabetiche, del rene policistico dell'adulto, della nefropatia membranosa e della sindrome nefrosica idiopatica, della nefropatia cronica del trapianto, delle complicanze cardiovascolari del paziente diabetico, nefropatico, dializzato o trapiantato e delle microangiopatie trombotiche.

Molte di queste attività si avvalgono di una stretta collaborazione con il Dipartimento di Medicina Molecolare, il Dipartimento di Bioingegneria e l'Azienda Socio Sanitaria Territoriale Papa Giovanni XIII di Bergamo col fine ultimo di programmare le attività di ricerca clinica del Dipartimento alla luce delle conoscenze che derivano dalla ricerca di base e delle problematiche che emergono dall'attività clinica di routine.

Obiettivi

- Identificare **strategie di screening e intervento atte a prevenire l'insorgenza della nefropatia** e di altre complicanze croniche **nel paziente diabetico e/o iperteso**
- Definire **strategie di intervento per prevenire o rallentare la progressione delle nefropatie croniche** ed eventualmente ottenere una remissione/regressione del danno renale
- Ideare e validare terapie innovative della nefropatia membranosa, della sindrome nefrosica idiopatica e del rene policistico dell'adulto
- Ottimizzare i **protocolli di terapia immunosoppressiva nel trapianto** col fine ultimo di ottenere la tolleranza dell'organo trapiantato e identificare nuovi criteri di selezione dei donatori per aumentare il pool di organi disponibili

Laboratori

1. Laboratorio di Biostatistica
2. Laboratorio Coordinamento e Conduzione di Studi Clinici Controllati
3. Laboratorio di Chimica Clinica
4. Laboratorio Fasi Avanzate dello Sviluppo dei Farmaci nell'Uomo
5. Laboratorio Monitoraggio e Farmacovigilanza delle Sperimentazioni Cliniche
6. Laboratorio Attività regolatorie relative agli studi clinici

DIPARTIMENTO DI NEUROSCIENZE

Capo Dipartimento: Gianluigi Forloni

Il Dipartimento di Neuroscienze studia le malattie neurologiche e psichiatriche dal punto di vista delle basi biologiche, di alcuni aspetti clinici e della valutazione dei servizi sanitari.

Mira a comprendere le cause, descrivere i sintomi e identificare strategie terapeutiche in grado di attenuare o arrestare il decorso clinico.

Obiettivi

- Studiare le Malattie Neurodegenerative più comuni come Alzheimer e Parkinson o più rare come le malattie da prioni o la sclerosi laterale amiotrofica (SLA) che si sviluppa dalla ricerca di base sui meccanismi patogenetici, utilizzando modelli in vivo e in vitro, fino alla ricerca clinica ed epidemiologica
- Studiare le altre malattie neurologiche come l'epilessia, il trauma cranico e spinale, l'ictus cerebrale, l'autismo e le sostanze d'abuso
- Elaborare approcci terapeutici, che dai modelli sperimentali arrivino a livello clinico
- Studiare l'invecchiamento per identificare possibili fattori di rischio e benefici nello sviluppo di demenze con un'attenzione specifica agli aspetti genetici
- Valutare la qualità dei servizi e l'impatto delle politerapie in ambito geriatrico finalizzati allo sviluppo di più appropriati protocolli terapeutici
- Individuare i biomarcatori nelle diverse malattie neurologiche capaci di monitorare il progresso della malattia, di migliorare l'accuratezza diagnostica e di valutare l'impatto terapeutico
- Identificare e caratterizzare biomarcatori classici e innovativi nel plasma, esosomi e CSF che combinati con indagini genetiche permettono lo sviluppo di profili di rischio utili a selezionare i pazienti neurologici

Laboratori

1. Laboratorio Danno Cerebrale Acuto e Strategie Terapeutiche
2. Laboratorio Infiammazione e Malattie del Sistema Nervoso
3. Laboratorio Neurobiologia dei Prioni
4. Laboratorio Malattie Neurologiche
5. Laboratorio Neurologia Sperimentale

6. Laboratorio Neurobiologia Molecolare
7. Laboratorio Neuropsichiatria Geriatrica
8. Laboratorio Neurochimica e Comportamento
9. Unità di Disfunzioni Neuromuscolari
10. Laboratorio Biologia delle Malattie Neurodegenerative
11. Laboratorio Valutazione della Qualità delle Cure e dei Servizi per l'Anziano
12. Laboratorio Psicofarmacologia Sperimentale
13. Laboratorio Meccanismi Molecolari Malattie da Poliglutammine

DIPARTIMENTO DI ONCOLOGIA

Capo Dipartimento: Valter Torri

L'obiettivo del Dipartimento di Oncologia è di rendere più efficaci le terapie per la cura dei tumori attraverso studi che approfondiscano gli aspetti molecolari, biologici e farmacologici. Lo scopo finale è arrivare ad applicazioni cliniche in grado di migliorare la sopravvivenza e la qualità della vita di pazienti oncologici.

I progetti seguiti dal Dipartimento riguardano diversi tipi di neoplasie, però la maggioranza degli studi preclinici e clinici si focalizzano sui tumori ginecologici, sui sarcomi, sui tumori toracici (polmone, mesoteliomi e timomi) e sui tumori pancreatici.

Obiettivi

- Identificare nuovi target molecolari “druggable” ed anche biomarkers diagnostici, prognostici e predittivi della responsività a specifiche terapie antitumorali
- Studiare la biologia dei tumori, e cioè i pathways della loro crescita, della loro neoangiogenesi, della metastatizzazione e della loro interazione con la risposta immunitaria
- Studiare il meccanismo d'azione e delle proprietà farmacocinetiche e farmacodinamiche di nuovi farmaci antitumorali, con meccanismo d'azione innovativo in grado di agire direttamente sul tumore o sulla sua interazione con l'ospite
- Studiare i meccanismi alla base della resistenza ai farmaci antitumorali e possibili metodi per superarla
- Studiare nuove combinazioni di farmaci o del loro impiego “off-label”, sia in modelli sperimentali che in clinica
- Ottimizzazione dell'utilizzo di farmaci e strategie terapeutiche mirata al miglioramento della normale pratica clinica
- Affrontare i problemi metodologici sulla scelta del disegno più appropriato ed efficiente per la valutazione dell'attività clinica dei nuovi farmaci con meccanismi d'azione differenti dai chemioterapici tradizionali.

Laboratori

1. Laboratorio Terapia delle Metastasi Tumorali
2. Laboratorio Farmacologia Antitumorale
3. Laboratorio Farmacologia Molecolare
4. Laboratorio Microambiente Tumorale
5. Laboratorio Metodologia per la Ricerca Clinica
6. Laboratorio di Metodologia delle Revisioni Sistematiche e Produzione di Linee Guida

DIPARTIMENTO DI SALUTE PUBBLICA

Capo Dipartimento: Maurizio Bonati

La ricerca del Dipartimento di Salute Pubblica è mirata a comprendere i **fattori che influenzano sia la salute dei singoli che delle popolazioni**, al fine di definire quali siano gli interventi efficaci per soddisfare i bisogni di ciascun cittadino.

Particolare enfasi è rivolta, da un lato alla prevenzione, al fine di ridurre i rischi di contrarre malattie con interventi sempre più precoci e, dall'altro all'informazione al fine di favorire un'attiva partecipazione e un giusto coinvolgimento.

Obiettivi

- Miglioramento del **benessere complessivo della madre e del bambino**, sin dalla nascita e durante tutta la crescita
- Monitoraggio e valutazione epidemiologica dell'**uso razionale dei farmaci e dei vaccini**
- Valutazione dei percorsi diagnostico-terapeutici dei **disturbi psichiatrici in età evolutiva** e dei relativi interventi nella pratica ospedaliera e nelle cure primarie
- **Informazione, formazione e confronto** degli operatori sanitari e sociali, della popolazione e delle sue rappresentanze
- Supporto metodologico e programmatico per la **pianificazione degli interventi in ambito sanitario** nell'ambito del SS

Laboratori

1. Laboratorio di Epidemiologia Clinica
2. Laboratorio di Informatica Medica
3. Laboratorio Ricerca per il Coinvolgimento dei Cittadini in Sanità
4. Laboratorio per la Salute Materno Infantile
5. Laboratorio di Clinical Data Science
6. Laboratorio di Farmacoepidemiologia

RELAZIONE SULLE PRINCIPALI ATTIVITÀ DI RICERCA DELL'ISTITUTO MARIO NEGRI

I NUMERI DELLA RICERCA 2020

161	508	4013
PROGETTI DI RICERCA ATTIVI	PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE	IMPACT FACTOR TOTALE*

ATTIVITA' DI RICERCA NELL'AMBITO DELLE NEUROSCIENZE

a. Lo sviluppo di modelli sperimentali riguardanti malattie neurologiche con un impatto importante in termine di sanità pubblica ma anche patologie rare, ha messo in rilievo alcuni aspetti che determinano l'insorgenza e la progressione di queste malattie. Queste indagini hanno permesso la definizione di protocolli preclinici per la valutazione dell'efficacia di nuovi farmaci. In questo ambito, gli esempi di eccellenza riguardano: i) l'utilizzo di modelli di **epilessia** acquisita nei roditori per dimostrare, attraverso studi meccanicistici e farmacologici, il contributo della neuroinfiammazione e dello stress ossidativo nell'insorgenza e nella progressione della crisi epilettiche, nei deficit cognitivi e nell'istopatologia associata all'epilessia. Inoltre è stato studiato il ruolo di marker infiammatori e di stress ossidativo come potenziali biomarcatori prognostici e predittivi dell'effetto terapeutico di nuovi farmaci ii) la definizione del ruolo della neuroinfiammazione nell'insorgenza e nella progressione di **eventi patologici acuti e cronici** (Paldino et al Molec. Neurobiol, 2020; Terrone et al, Neuropharmacology, 2020); ii) l'utilizzo di modelli murini di sclerosi laterale amiotrofica geneticamente modificati per individuare il ruolo del sistema immunitario/infiammatorio nella patofisiologia di questa malattia quale target terapeutico (Trolese et al. EBiomedicine, 2020; Vallarola et al. Int.J.Mol Sci, 2020; Fabbrizio et al Brain Pathol. 2020) iii) lo studio di possibili approcci terapeutici in modelli di **malattia di Alzheimer** (Ruotolo et al Mol. Nut. Food Res., 2020); sempre in mabito Alzheimer la validazione, nell'ambito del progetto Europeo IMI-Pharmacog, di biomarcatori al fine di ottimizzare l'efficacia degli studi clinici (Marizzoni et al Neurobiol Aging 2020) e l' elaborazione di nuove strategie terapeutiche (Forloni, BMJ Neurol Open e000079; 2020); iv) l'utilizzo di modelli murini di **malattie da prioni** geneticamente modificati per comprenderne i meccanismi patogenetici (Ghirardini et al., PLOS Pathogens, 2020); v) l'utilizzo di modelli cellulari e murini di **sindrome di Marinesco-Sjogren**, una rara malattia genetica dell'infanzia, per studiare i meccanismi patogenetici e valutare potenziali terapie (Chiesa and Sallese, Neuropath Appl Neurobiol, 2020; vi) Sviluppo e utilizzo di modelli cellulari e murini di **trauma cranico** per studiare i meccanismi che trasformano un danno

biomeccanico acuto in una patologia cronica neurodegenerativa (Fraunberger EA et al., J Neurotrauma 2020) e grazie ai quali è stato possibile dimostrare un ruolo patogenetico della proteina tau indotta dal trauma con importanti implicazioni terapeutiche. È stato anche studiato il ruolo di proteine circolanti indicative di danno assonale e di attivazione gliale nel predire l'evoluzione del danno neurologico e l'effetto di nuovi approcci terapeutici (Huie JR et al., J. of Neurotrauma 2020; Moro et al., BJA 2020). vii) la dimostrazione in un modello murino di **Sindrome di Angelman**, una malattia rara del neurosviluppo ascrivibile ai disturbi dello spettro autistico, del ruolo chiave di JNK nella patogenesi delle alterazioni sinaptiche e comportamentali di questa patologia. In particolare, è stato osservato che l'inibizione di JNK è in grado di indurre un miglioramento di queste condizioni (Musi et al., Neurobiol Dis. 2020) ix) Studio dell'efficacia di agenti serotoninergici nel contrastare il deficit motorio in modelli murini di **Sindrome di Rett** (Villani et al, Neuropharmacology 2020). Generazione di un nuovo topo reporter MyoRep per seguire *in vivo* in longitudinale l'atrofia neuromuscolare in piccoli roditori attraverso tecniche di *in vivo* imaging. MyoRep permetterà di individuare marcatori precoci e nuovi bersagli molecolari per la finora incurabile **atrofia neuromuscolare** che si scatena durante una miriade di malattie peggiorandone il decorso, tra cui la **Sclerosi Laterale Amiotrofica**, la sindrome di Rett, la sindrome di Marinesco-Sjogren e la **cachessia tumorale** (ulteriori dettagli al link: <https://www.knowledge-share.eu/en/patent/reporter-system-for-muscle-atrophy/>).

È infine in fase di studio il meccanismo patogeno della miopatia correlata a SEPN1 e abbiamo scoperto che SEPN1 è un sensore di calcio con funzione redox (Chernorudskiy et al PNAS 2020).

b. Lo sviluppo di nuovi biomateriali e di nanoparticelle opportunamente funzionalizzate si è dimostrato un approccio efficace nei modelli sperimentali di malattia di Alzheimer e di trauma spinale per facilitare il passaggio dei principi attivi nel sistema nervoso, favorendo nel contempo il loro rilascio controllato.

c. Definizione del ruolo degli oligomeri solubili di proteine amiloidogeniche nello sviluppo di patologie neurodegenerative.

d. Disegno e coordinamento di studi clinici di fase II, III e IV. In quest'ambito l'Istituto Mario Negri: i) è promotore/coordinatore di studi indipendenti nazionali ed internazionali sull'appropriatezza di strategie terapeutiche nel campo dell'epilessia; ii) coordina (CREACTIVE) e partecipa attivamente (CENTER TBI, BIO-AX-TBI) a network internazionali nell'ambito di studi clinici che propongono un approccio integrato per migliorare la prevenzione, la gestione clinica e la ricerca nel trauma cranico; iii) coordina lo studio preventivo con doxiciclina in soggetti geneticamente a rischio per lo sviluppo dell'**Insonnia Fatale Familiare**.

L'Istituto ha partecipato al disegno, e collabora nel coordinamento, dello studio translazionale *Trial of Remote Ischemic Conditioning in Acute Ischemic Stroke (TRICS)* dell'effetto del condizionamento ischemico remoto sia su soggetti adulti affetti da ictus ischemico non candidato alla ricanalizzazione (fase II) sia sui relativi modelli animali (preclinica: ratti e topi) (Tettamanti M et al., BMJ Open Science 2020; 4: e100063)

f. L'Istituto da 19 anni coordina uno studio prospettico di popolazione (*Monzino 80-plus Study*) che valuta prevalenza, incidenza e fattori di rischio della **demenza** in una vasta coorte di ultraottantenni residenti nella provincia di Varese (Lucca U et al., *Alzheimers Dement* 2020; 16: 472-481).

h. Studio del "burden" delle malattie neurologiche nell'Unione Europea Lo studio è parte della collaborazione in atto con l'Institute of Health Metrics & Evaluation (Seattle, USA) e si ripropone di calcolare incidenza, prevalenza e "Disability Adjusted Life Years" (DALYs, una misura della mortalità prematura e della disabilità residua) delle principali malattie neurologiche in Europa; dai risultati dell'indagine è emerso che le malattie neurologiche in Europa sono al terzo posto dopo le malattie cardiovascolari e i tumori. Ictus cerebrale, demenze e cefalea sono le principali cause di DALYs. (Deuschl et al., *Lancet Public Health*, 2020).

h. Sviluppo e validazione di nuovi modelli animali, basati sull'uso del nematode *C. elegans*, per lo studio dei meccanismi responsabili dell'insorgenza e progressione delle **tauopatie**. (Natale et al, *Brain Sci.* 2020).

i. Studio **dell'epidemiologia dell'acufene**, la percezione di un rumore (come un ronzio, un fischio, un fruscio o un sibilo) avvertito nelle orecchie o nella testa in assenza di uno stimolo acustico esterno. Da diversi anni il Laboratorio degli Stili di Vita dell'Istituto Mario Negri di Milano studia quanto questo disturbo sia frequente nella popolazione, quale sia la sua distribuzione nei sessi e nelle differenti classi di età e quali siano i suoi potenziali fattori di rischio.

l. La valutazione dell'efficacia della **somministrazione di liposomi tramite la tecnica intranasale** come strategia per veicolare colesterolo al sistema nervoso centrale in un modello murino di **malattia di Huntington**. Parallelamente, si vuole validare come nuovo biormaker plasmatico della progressione della patologia il principale metabolita cerebrale del colesterolo: il **24OH-colesterolo**.

m. Un nuovo studio sulla **Sclerosi Laterale Amiotrofica -SLA**, condotto su modelli animali e pazienti, ha evidenziato che l'enzima ciclofillina A (PPIA) è fondamentale per il corretto funzionamento di TDP-43. Infatti, l'assenza di ciclofillina A (PPIA) nel modello animale induce una malattia neurodegenerativa che è simile alla SLA e provoca l'accumulo anomalo della proteina TPD-43. (Defective cyclophilin A induces TDP-43 proteinopathy: implications for amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia. Pasetto L, Grassano M, Pozzi S, Luotti S, Sammali E, Migazzi A, Basso M, Spagnolli G, Biasini E, Micotti E, Cerovic M, Carli M, Forloni G, De Marco G, Manera U, Moglia C, Mora G, Traynor BJ, Chiò A, Calvo A, Bonetto V. *Brain*. 2021 Dec 31;144(12):3710-3726. doi: 10.1093/brain/awab333.PMID: 34972208)

ATTIVITA' DI RICERCA NELL'AMBITO DELLE MALATTIE RARE

L'Istituto Mario Negri ha aggiunto alle sue tradizionali linee di ricerca l'interesse per le malattie rare sin dal 1992, quando ha inaugurato il Centro di Ricerche Cliniche per le Malattie Rare presso la sua sede di Ranica (BG) e ha dato nuovo slancio alle ricerche sulle malattie rare all'interno dei diversi Dipartimenti nelle sedi di Milano e Bergamo.

Particolare impulso è stato dato all'organizzazione dei Registri di patologia, quali strumenti utili non solo a raccogliere dati epidemiologici, ma anche per costituire banche di dati e di campioni biologici indispensabili allo sviluppo della conoscenza delle malattie e potenzialmente del loro trattamento. Le prime raccolte di campioni biologici da parte dell'Istituto sono state organizzate agli inizi degli anni '90. Negli anni successivi, queste collezioni di campioni biologici si sono trasformate in vere e proprie Biobanche, nel rispetto dei livelli di qualità e di sicurezza nel trattamento dei dati sensibili richiesti dalle normative e dalle linee guida. Attualmente le diverse Biobanche sono strutturate in un Centro di Risorse Biologiche (CRB) certificato.

Queste attività di raccolta dati sono parte essenziale nello sviluppo di trials clinici per testare l'efficacia di nuovi approcci terapeutici, sia direttamente - coinvolgendo pazienti accolti nella sede di Ranica - sia svolgendo un ruolo di coordinamento per studi multicentrici nazionali e internazionali.

Vengono di seguito riepilogate le principali linee di ricerca volte allo studio di specifiche malattie rare.

a. Microangiopatie Trombotiche. La Sindrome Emolitico Uremica (SEU) e la Porpora Trombotica Trombocitopenica (PTT) sono malattie rare caratterizzate da anemia emolitica, diminuzione del numero delle piastrine e occlusione trombotica dei piccoli vasi (microangiopatia trombotica), con prevalente coinvolgimento dei reni nella SEU e del sistema nervoso nella PTT. Nella loro forma tipica e nell'80-90% dei casi, SEU e PTT si manifestano con un evento acuto seguito da guarigione senza conseguenze; ciò può avvenire spontaneamente (come in molti casi di SEU infantile, associata a infezione gastrointestinale) oppure dopo infusione di plasma o plasmaferesi. Alcuni pazienti vanno invece incontro a una remissione transitoria, seguita da ricadute che comportano lo sviluppo di danni renali o neurologici permanenti (forme ricorrenti). Esistono inoltre varianti estremamente rare di SEU/PTT, denominate familiari, in cui sono colpiti almeno due soggetti nella stessa famiglia.

Le analisi molecolari hanno permesso di dimostrare che nella maggior parte dei casi di SEU atipica è presente una predisposizione genetica, ovvero un'anomalia genetica in uno o più fattori di regolazione del complemento (Fattore H, Fattore I, Proteina Cofattore di Membrana, componente C3 del complemento, Fattore B, Trombomodulina, geni CFH-related) e che in bambini con esordio precoce (< 1 anno di età) le mutazioni possono essere a carico della diacilglicerolo chinasi ϵ (DGKE). Grazie a questi studi si è potuto dimostrare che il fenotipo clinico, la risposta al trattamento, la prognosi a lungo termine e il risultato dell'eventuale trapianto di rene sono influenzati dalle diverse anomalie genetiche. Gli stessi studi hanno

inoltre fornito il razionale per nuove terapie quali la plasmateresi a scopo preventivo, il trapianto combinato fegato-rene e il trattamento con eculizumab per prevenire o trattare in modo efficace le ricadute della SEU atipica.

Un altro risultato particolarmente significativo ottenuto è rappresentato dalla possibilità di identificare, tra i pazienti con PTT, quelli a rischio di recidiva e di fornire loro un trattamento preventivo.

Nato nel 1996, il Registro Internazionale per le Forme Familiari e Ricorrenti di SEU e PTT ha permesso di raccogliere la più ampia casistica a livello internazionale (1687 pazienti con SEU/PTT segnalati da un centinaio di Centri italiani e da ottanta Centri europei ed extraeuropei). Ad oggi è stato possibile riconoscere un fattore genetico predisponente la malattia in circa due terzi dei casi di SEU atipica e nelle forme familiari di TTP. Sono in corso studi di sequenziamento dell'intero esoma per l'identificazione di nuovi geni responsabili di malattia.

Grazie agli studi condotti, è oggi possibile individuare i pazienti in grado di trarre beneficio dall'utilizzo dei farmaci inibitori del sistema del complemento, ottimizzare il dosaggio e ridurre i costi – estremamente elevati – di tali trattamenti ed indirizzare i pazienti verso l'eventuale trapianto di rene, riducendo considerevolmente i rischi di ricorrenza della malattia.

Gli attuali progetti hanno l'obiettivo di chiarire le conseguenze funzionali delle diverse mutazioni e le loro interazioni con fattori genetici ed ambientali per spiegare l'estrema eterogeneità dei quadri clinici osservati anche nell'ambito di nuclei familiari.

L'impiego in clinica dell'anticorpo monoclonale anti-C5 eculizumab, che blocca la parte terminale della cascata del complemento, ha efficacemente indotto la remissione e impedito la comparsa di recidive della malattia sia in reni nativi che in reni trapiantati, confermando il ruolo dell'attivazione incontrollata del complemento nella patogenesi di SEU atipica. Presso i nostri Laboratori è stato messo a punto negli anni scorsi un test per il monitoraggio dello stato di attivazione del sistema del complemento. Tale test è stato utilizzato con successo per monitorare ed individualizzare il trattamento con eculizumab in un'ampia coorte di pazienti con SEU atipica. Ulteriori studi longitudinali consentiranno di valutare la possibilità di ridurre o sospendere il trattamento con eculizumab in condizioni di sicurezza, offrendo al paziente il massimo della tutela e riducendo i costi a carico del SSN.

Nel 2021 sono giunti a conclusione tre programmi di ricerca condotti utilizzando test ex-vivo:

Lo studio ADMIRX, volto a valutare l'effetto di inibitori che si legano all'endotelio sulla attivazione del sistema del complemento in pazienti con SEU atipica, è stato reso possibile grazie alla disponibilità di campioni biologici ottenuti da 9 pazienti. Le molecole testate con risultati incoraggianti potrebbero in futuro essere sviluppate come farmaci. I nuovi composti, bloccando l'attivazione del complemento solo a livello endoteliale, potrebbero rappresentare un'alternativa ad eculizumab, gravata da un minor rischio di infezioni potenzialmente fatali che deriva da una inibizione generalizzata del sistema del complemento.

Lo studio SKY59, iniziato nel 2019, aveva l'obiettivo di comprendere il ruolo della cascata della coagulazione nello sviluppo della SEU atipica e di valutare l'effetto di un anticorpo sviluppato da Roche che non solo blocca la frazione C5 del complemento ma, diversamente dall'eculizumab, ne promuove l'internalizzazione e la degradazione nelle cellule. Nell'ambito del progetto sono stati analizzati campioni relativi a 5 pazienti con SEU atipica e 10 volontari sani.

Un terzo studio ha valutato l'effetto di OMS721 – inibitore della via delle lectine - nella microangiopatia trombotica associata a trapianto di cellule staminali ematopoietiche o midollo osseo, una grave complicanza che può presentarsi nel 20-40% dei riceventi. Risultati preliminari indicano come la via delle lectine possa svolgere un ruolo anche nella microangiopatia trombotica associata a trapianto. I dati preliminari, ottenuti analizzando i campioni relativi a tre pazienti con questa condizione ultra-rara, dimostrano che OMS721 è efficace nel prevenire la formazione di trombi a livello delle cellule endoteliali esposte al siero di pazienti con microangiopatia trombotica associata a trapianto.

Per i tre studi è in corso l'analisi dei dati.

Sono inoltre in corso studi sperimentali per valutare le possibilità di una terapia enzimatica sostitutiva nei casi di deficit congenito o anomalie funzionali del fattore H e il ruolo del sistema del complemento nel determinare il danno renale nella Sindrome Emolitico Uremica.

b. Glomerulonefrite membranoproliferativa e C3 Glomerulopatia. Le glomerulonefriti membranoproliferative (Membranoproliferative Glomerulonephritis, MPGN) e le C3 Glomerulopatie (C3 Glomerulopathy, C3G) sono nefropatie progressive a prognosi sfavorevole con una sopravvivenza renale a 10 anni del 50-60%. L'alterata regolazione del sistema del complemento gioca un ruolo importante nella loro patogenesi, sia attraverso la via classica, attivata dagli immunocomplessi, sia attraverso la via alternativa. Per molte delle varianti di MPGN/C3G sono state descritte forme familiari e questo suggerisce che anomalie genetiche possano predisporre lo sviluppo. Tra i pazienti che hanno sviluppato un'insufficienza renale terminale come conseguenza di MPGN/C3G, gli studi si propongono di identificare, come già avvenuto per le microangiopatie trombotiche, i casi con potenziale maggiore rischio di recidiva post-trapianto per attuare misure di prevenzione.

Il nostro Centro è attivamente impegnato nello studio di MPGN/C3G, sia dal punto di vista dell'approfondimento della patogenesi, sia per testare nuovi approcci terapeutici. Le attività si svolgono in collaborazione con altri Centri di rilievo internazionale e nell'ambito dell'European Complement Network, ECN <http://www.ecomplement.org/>

L'Istituto è l'unico Centro in Italia che svolge l'intero spettro delle indagini biochimiche e genetiche per lo studio di MPGN/C3G. Rappresenta inoltre un punto di riferimento riconosciuto a livello internazionale per la realizzazione di studi clinici e per l'identificazione di nuovi target farmacologici. I nostri studi hanno posto le basi per una nuova classificazione e per una più accurata previsione della prognosi in termini di progressione verso l'insufficienza renale terminale con necessità di dialisi. Le attuali conoscenze in tema di classificazione e

caratterizzazione di queste malattie sono state oggetto di una rivalutazione complessiva che ha affrontato la necessità di sviluppare un approccio terapeutico personalizzato.

L'insieme delle attività di ricerca clinica si svolge nell'ambito di un progetto che, a partire dal 2020, si è concretizzato nella vera e propria istituzione di un Centro di Riferimento multispecialistico per lo studio e la cura delle IC-MPGN/C3G. Il gruppo multispecialistico è costituito da nefrologi, genetisti, infermieri, ricercatori e tecnici con consolidata esperienza nelle IC-MPGN/C3G e usufruisce di apparecchiature e servizi (ambulatori, day hospital, laboratori) dedicati.

Nato nel 2006, il Registro delle MPGN/C3G ha permesso di raccogliere i campioni biologici di 561 pazienti con MPGN/C3G oltre che dei loro familiari, grazie al coinvolgimento di 35 centri italiani e 15 centri stranieri. In circa il 20% dei casi è stato possibile identificare nell'ambito del sistema del complemento un fattore genetico predisponente lo sviluppo della malattia. Nell'ultimo decennio, la classificazione di queste malattie è stata revisionata più volte. Quella attuale, basata sulla composizione dei depositi osservati con l'immunofluorescenza nella biopsia renale, distingue le forme con coinvolgimento della via classica del complemento (IC-MPGN) da quelle mediate da un'attivazione della via alternativa (C3G). Studi recenti, ai quali il nostro Centro ha contribuito in modo determinante, hanno tuttavia dimostrato che l'attivazione della via alternativa del complemento è coinvolta anche nelle IC-MPGN. Abbiamo inoltre osservato che alcune varianti genetiche comuni sinergizzano con le mutazioni nel predisporre alla malattia. Oltre ai fattori genetici, autoanticorpi che legano e stabilizzano le convertasi della via alternativa del complemento (C3NeFs, C5NeFs) e altri autoanticorpi (anti-FH, anti-FB, anti-C3b, anti-CR1 e anti-FI) sono stati riscontrati sia in pazienti con IC-MPGN (circa 40%) che in pazienti con C3G (circa 50%). In un nostro lavoro abbiamo osservato che circa la metà dei malati con mutazioni nei geni del complemento sono anche positivi per C3NeFs/C5NeFs, confermando la complessità delle MPGN/C3G. Questi dati, uniti alle evidenze che la diagnosi istologica può modificarsi da IC-MPGN a C3G o viceversa in occasione di ripetute biopsie renali, e alla presenza di diversi quadri istologici in membri della stessa famiglia, indicano che alterazioni della via alternativa del complemento sono coinvolte sia nelle IC-MPGN che nella C3G, e sottolineano i limiti dell'attuale classificazione.

Recentemente sono state introdotte tecniche di analisi dei dati, conosciute come cluster analysis, che esplorano la possibilità di suddividere i pazienti con una determinata patologia in gruppi relativamente omogenei, caratterizzati da specifici meccanismi fisiopatogenetici. Il nostro gruppo ha applicato la cosiddetta unsupervised cluster analysis (classificazione non supervisionata) quale strumento obiettivo, data-driven, per individuare gruppi a partire dai dati disponibili (clinici, biochimici, genetici, istologici) evitando ogni assunzione o influenza da parte dello sperimentatore. Questo approccio è stato applicato con successo alla casistica dei pazienti con MPGN/C3G raccolta grazie al Registro e ha permesso di identificare la presenza di quattro gruppi/cluster, ciascuno caratterizzato da specifici profili del complemento e quadri clinici. In aggiunta, l'analisi ha assunto un valore prognostico, dimostrando che i malati nel cluster 4 hanno maggiore probabilità di progredire verso l'insufficienza renale terminale. Tali risultati pongono le basi per una nuova classificazione basata sull'eziopatogenesi e consentiranno lo sviluppo di terapie mirate.

Nel 2021 hanno avuto inizio i seguenti studi:

- Defining stratification of patients with C3 Glomerulopathies/immune complex mediated glomerular diseases for better diagnosis and tailored treatment (DECODE)

Il progetto, approvato nell'ambito della ERAPerMed Joint Transnational Call for Proposals (2020), è coordinato dal nostro Istituto e vede la partecipazione di un consorzio di Centri europei. Sulla base degli studi precedenti, implementeremo l'analisi di cluster combinando l'approccio con tecnologie omiche (WES, proteomica e metabolomica). L'obiettivo primario dello studio è quello di definire un criterio preciso di classificazione dei pazienti affetti da C3G/IC-MPGN, e di identificare dei biomarker specifici che possano essere utilizzati per la classificazione diagnostica, per valutare la prognosi e individuare per questi pazienti delle strategie terapeutiche mirate. I risultati ottenuti saranno cruciali per il successo di trial clinici e aiuteranno i clinici ad offrire ai loro pazienti una maggiore possibilità di migliorare la propria condizione, di limitare gli effetti collaterali derivanti dall'impiego di inibitori non selettivi e di ridurre i costi. Questa proposta ha l'opportunità unica di studiare una coorte ampia di pazienti che sono stati caratterizzati accuratamente sotto il profilo genetico e immunologico, dei quali sono disponibili i dati clinici e le caratteristiche biochimiche.

Saranno reclutati 300 pazienti con C3G o IC-MPGN diagnosticata tramite biopsia, afferenti al Registro istituito presso il Centro Daccò. Il DNA, il plasma, il siero e le urine di questi pazienti sono conservati presso la Biobanca del Centro Daccò.

- Ricerca dei meccanismi molecolari che causano malattie glomerulari rare mediate dal sistema del complemento per identificare terapie personalizzate (UNEARTH)

Lo studio prende spunto dall'ipotesi, supportata da robusti dati preliminari, che le anomalie genetiche associate ad IC-MPGN/C3G abbiano effetti eterogenei sull'attivazione del complemento, sia in fase fluida che sulla superficie cellulare, comportando anomalie funzionali e strutturali della barriera di filtrazione glomerulare ed, in particolare, dei podociti.

I risultati di questo studio, che prevede l'utilizzo dei campioni biologici relativi a 23 pazienti con specifiche anomalie genetiche, consentiranno di caratterizzare gli agenti molecolari coinvolti in IC-MPGN/C3G e di identificare le strategie terapeutiche atte a correggere le conseguenze funzionali in ogni paziente, contribuendo quindi allo sviluppo di trattamenti personalizzati.

Il nostro Centro è l'unico in Italia che partecipa a studi clinici internazionali di fase 2 per valutare l'efficacia e la sicurezza di nuovi farmaci che inibiscono la via alternativa del complemento:

- Studio in aperto di fase II proof-of-concept in pazienti con C3G o IC-MPGN trattati con ACH 0144471 (Clinical Trials: NCT03459443, Eudract: 2017-004701-40)
- Studio in aperto, non randomizzato, sull'efficacia, farmacocinetica, farmacodinamica, sicurezza e tollerabilità di LNP023 in due popolazioni di pazienti con glomerulopatia C3 (Clinical Trials: NCT03832114, Eudract: 2017-000889-29)

- OL Extension Study of LNP023 in C3G (Clinical Trials NCT03955445).

- Studio multicentrico, randomizzato, in doppio cieco, a gruppi paralleli, controllato verso placebo per valutare l'efficacia e la sicurezza di iptacopan (LNP023) nella glomerulopatia da C3 – (APPEAR-C3G) (Clinical Trials: NCT04817618)

Proseguono inoltre gli studi volti a caratterizzare funzionalmente le anomalie genetiche identificate in pazienti con MPGN/C3G e ad approfondire la conoscenze per l'identificazione di nuovi bersagli molecolari.

c. Sindromi nefrosiche. La denominazione Sindrome Nefrosica (SN) si applica ad una condizione clinica caratterizzata dalla associazione tra proteinuria conclamata, ipoalbuminemia, edema generalizzato e dislipidemia. Una SN può derivare dalla presenza di lesioni renali primitive o essere secondaria a malattie sistemiche.

La SN idiopatica può essere associata a diverse condizioni istologiche: malattia a lesioni minime, glomerulosclerosi focale e segmentale (GSFS) e glomerulonefrite proliferativa mesangiale. Le forme sopra descritte sono trattate con corticosteroidi, che portano alla remissione in una percentuale di casi che vanno dal 90% nelle persone con lesioni minime, al 30% nel caso di GSFS. Sfortunatamente, anche quando i corticosteroidi sono efficaci, fino al 70% dei pazienti ha almeno una recidiva nel corso della vita e deve essere nuovamente trattato. Sulla base della frequenza delle recidive e/o della necessità di mantenere una dose a lungo termine di corticosteroidi per evitare una nuova insorgenza di SN, questi pazienti sono classificati come dipendenti da steroidi (SNSD) o come frequentemente ricorrenti (SNFR). Per prevenire le ricadute, sono stati recentemente sviluppati protocolli terapeutici basati sull'uso di anticorpi monoclonali anti-CD20 (rituximab e ofatumumab). Questi trattamenti causano un profondo esaurimento dei linfociti B circolanti, che persiste fino a circa 6 mesi dalla somministrazione del farmaco.

La maggior parte delle conoscenze attuali sulle cause genetiche di SN deriva dagli studi di forme familiari. Oltre alle forme isolate di SN, sono state descritte diverse sindromi caratterizzate da SN con manifestazioni extra-renali, come ad esempio la sindrome di Denys-Drash, i disordini MYH9-correlati e la sindrome rene-coloboma. La nostra attività di ricerca nel campo delle SN è iniziata con progetti focalizzati sui casi familiari.

Diverse evidenze suggeriscono come la GSFS idiopatica, ovvero la forma non associata a mutazioni genetiche, sia causata dalla presenza di un fattore circolante in grado di alterare la struttura e la funzione dei podociti, cellule essenziali per il sistema di filtrazione renale. Recenti studi sulla patogenesi della SN hanno individuato diverse molecole come potenzialmente responsabili della malattia; il loro ruolo effettivo rimane tuttavia incerto. Il contributo del nostro Istituto alla comprensione delle sindromi nefrosiche spazia dagli studi sperimentali, alla validazione dei biomarcatori di malattia, alla identificazione di nuovi bersagli terapeutici, grazie anche a collaborazioni internazionali.

Di particolare rilievo lo studio che ha permesso di generare due linee di iPS (induced pluripotent stem cells) a partire da un paziente con SN secondaria a GSFS da causa genetica. La disponibilità delle linee cellulari mutate rappresenta il primo passo per lo studio dei meccanismi patogenetici e sarà fondamentale per accelerare l'individuazione dei possibili approcci terapeutici.

L'obiettivo generale del Registro, istituito nel 2007, è l'individuazione di nuovi fattori genetici associati alla malattia. La successiva caratterizzazione funzionale delle proteine codificate permette di acquisire conoscenze sulle funzioni della barriera filtrante del glomerulo renale e di capire le conseguenze delle loro alterazioni per disegnare terapie specifiche ed evitare l'uso di farmaci inefficaci e tossici. Inoltre, l'individuazione di portatori di mutazioni nelle famiglie permette di intervenire prima che si manifestino i sintomi con terapie preventive. Fino ad oggi, nell'ambito di diversi progetti, sono stati raccolti le storie cliniche e i campioni biologici di 702 pazienti, oltre che dei loro familiari grazie al coinvolgimento di 36 Unità di Nefrologia italiane e di 14 internazionali. Un'alterazione genetica è stata identificata in circa il 35% dei casi.

Diversi studi suggeriscono come la GSFS idiopatica, ovvero la forma non è associata a mutazioni genetiche, sia causata dalla presenza di un fattore circolante in grado di alterare la struttura e la funzione dei podociti, cellule che formano il sistema di filtrazione renale. Sebbene siano stati fatti numerosi sforzi per identificare anomalie del sistema immunitario nei pazienti affetti da GSFS che potrebbero spiegare l'insorgenza e l'inesorabile progressione della malattia, finora non è stato possibile capire la cascata di eventi che causano la malattia. Gli obiettivi fondamentali degli studi in corso sono: 1) identificare il pattern di anomalie del sistema immunitario innato e adattativo che caratterizzano i pazienti con recidiva di GSFS nel rene trapiantato e 2) stabilire se tali anomalie possono effettivamente spiegare la recidiva di GSFS nel rene trapiantato.

Ulteriori studi clinici attivi nel 2021:

- Fenotipo e funzione della ricostituzione dei linfociti B dopo terapia con anti-CD20 nella sindrome nefrosica steroide-dipendente o a frequenti-recidive: nuove conoscenze nella patogenesi della malattia e identificazione di predittori di recidiva (BLADE);
- Studio prospettico sulla sicurezza ed efficacia dell'impiego di cellule stromali MESenchimali come terapia immunomodulatoria in pazienti pediatrici e giovani adulti affetti da sindrome nefrosica idiopatica cortico-sensibile a frequenti recidive o steroide-dipendente (MESNEPH).

d. Nefropatia membranosa. La Nefropatia Membranosa (NM), principale causa di sindrome nefrosica nell'adulto, è il risultato della deposizione di immunoglobuline IgG negli spazi subepiteliali dei capillari glomerulari. Per decenni il trattamento di questa malattia rara ha generato accese controversie in ambito nefrologico.

Negli ultimi anni abbiamo messo a punto una cura per la NM che punta a una maggiore selettività e minore tossicità rispetto alle terapie immunosoppressive tradizionali. In particolare, gli studi condotti hanno permesso di supportare l'impiego di rituximab quale

trattamento in grado di indurre remissione della malattia e di disegnare un protocollo finalizzato alla prevenzione delle recidive. Tali risultati sono stati successivamente confermati da studi internazionali. I nostri sforzi sono ora concentrati sul trattamento delle forme resistenti e sullo studio del ruolo svolto dal sistema del complemento nella patogenesi della malattia.

Circa il 70% dei pazienti affetti da NM presenta specifici anticorpi denominati anti-PLA2R, il che suggerisce che la malattia sia di origine autoimmune nella maggior parte dei casi. Questi anticorpi vengono prodotti da linfociti B e il trattamento con farmaci che mirano ad eliminare questo tipo di cellule (ad esempio, rituximab) ha dimostrato una significativa efficacia nel controllare la malattia. La terapia con rituximab può fallire nel 25-30% dei pazienti con sindrome nefrosica e, in un numero significativo di casi, la NM può provocare un progressivo peggioramento della funzione renale fino alla necessità di iniziare la dialisi o ricorrere ad un trapianto di rene nell'arco di pochi anni.

Studi pilota hanno dimostrato l'efficacia di un trattamento con un secondo farmaco anti-CD20 (ofatumumab) seguito da aferesi selettiva, in grado di accelerare la deplezione di anti-PLA2R rispetto alla sola monoterapia farmacologica.

Considerando che rituximab ed altri farmaci simili eliminano i linfociti B circolanti in tutti i pazienti, e che solo alcuni di questi linfociti B sono responsabili della produzione degli anticorpi anti-PLA2R, abbiamo ipotizzato che, nei pazienti che non vanno incontro a remissione, questi particolari linfociti B siano localizzati in altre sedi dell'organismo (milza, linfonodi) e tornino ad emergere successivamente al trattamento, vanificandone gli effetti.

Tra gli studi in corso si segnalano:

- Monitoraggio delle cellule B anti-PLA2R autoreattive e dei leucociti circolanti nella nefropatia membranosa: identificazione di predittori di outcome e studio dei meccanismi patogenetici (PEPTIDE) (Clinical Trials: NCT04095156);
- Proposta di studio per valutare l'efficacia di MOR202, un anticorpo anti-CD38, in pazienti con nefropatia membranosa resistenti alla terapia con anticorpi anti-CD20 (MONET) (Clinical Trials: NCT04893096, Eudract: 2021-000835-30).

e. Malattia renale policistica. La malattia renale policistica (Autosomal dominant polycystic kidney disease, ADPKD) è caratterizzata dalla formazione di cisti nel parenchima renale (ed anche epatico) che ne riducono progressivamente la funzione. Le cisti si sviluppano in genere tra i venti e i trent'anni e, nella metà dei pazienti, è necessario ricorrere alla dialisi entro i cinquanta anni di età. I farmaci che potrebbero prevenire la formazione e l'aumento di dimensioni delle cisti sono oggetto di studio. In particolare, il nostro Istituto è stato il primo a proporre la somatostatina come terapia del rene policistico, farmaco attualmente inserito da AIFA nell'elenco dei prodotti erogabili a carico del SSN per indicazione terapeutica diversa da quella autorizzata (Legge 648/1996).

Le cisti si formano a partire dai tubuli renali attraverso la proliferazione delle cellule epiteliali e il trasporto di fluidi nelle cavità generate dalla rapida crescita del tessuto epiteliale. Questi

eventi sono secondari all'aumento intracellulare di AMP ciclico (cAMP). L'Istituto ha in passato per primo ipotizzato che analoghi della somatostatina fossero in grado di inibire l'aumento di cAMP nell'epitelio cistico e potessero rappresentare farmaci in grado di modificare in modo specifico la progressione di ADPKD. Questa ipotesi è stata testata inizialmente in un piccolo studio pilota e successivamente in studi multicentrici disegnati e coordinati dall'Istituto (studio ALADIN e ALADIN2).

Il nostro gruppo sta inoltre attivamente collaborando alla definizione di Consensus in merito alla diagnostica per immagini e all'impiego di diverse tecniche (ultrasonografia, tomografia computerizzata, risonanza magnetica) per il monitoraggio di ADPKD e, più in generale, delle malattie cistiche del rene.

Nel 2018 è stato avviato un ulteriore studio di fase 2 in pazienti con ADPKD (Clinical Trials: NCT03541447, Eudract: 2017-004701-40) per valutare l'effetto a breve termine della somministrazione di tolvaptan e placebo rispetto alla combinazione di tolvaptan e octreotide-LAR. Livelli elevati di AMP ciclico giocano un ruolo centrale nella patogenesi e nella progressione della malattia. In modelli sperimentali di ADPKD, si è visto che gli antagonisti della vasopressina e gli analoghi della somatostatina, che determinano indirettamente una diminuzione dell'attività dell'enzima adenilatociclastasi, sono in grado di ridurre in modo significativo la proliferazione delle cellule tubulari del rene e la crescita delle cisti; un effetto che si associa, con entrambi i composti, ad una riduzione dei livelli di cAMP nel rene. La combinazione dei due trattamenti ha un chiaro effetto sinergico e riduce in modo significativo il volume delle cisti e del tessuto fibrotico così come i livelli di cAMP del rene. Queste osservazioni suggeriscono che anche i pazienti affetti da ADPKD potrebbero beneficiare del trattamento con la combinazione dei due farmaci. Per verificare l'ipotesi che tolvaptan e octreotide-LAR abbiano un effetto sinergico, abbiamo disegnato uno studio pilota, esplorativo, randomizzato, controllato con placebo con disegno in cross-over per paragonare gli effetti a breve termine della monoterapia con tolvaptan e della combinazione tolvaptan e octreotide LAR sul volume totale del rene, misurato con la risonanza magnetica, e sul GFR, misurato con la tecnica della clearance plasmatica dello ioexolo, in pazienti affetti da ADPKD con funzione renale normale e iperfiltrazione. Al 31/12/2021 sono stati arruolati i 20 pazienti previsti.

f. Malattie rare senza diagnosi: UDNI. Le malattie rare senza diagnosi (MRSD) sono caratterizzate da un fenotipo ben descritto e una base molecolare sconosciuta. Il nostro Istituto è parte di un gruppo coordinato dall'ISS che a sua volta fa riferimento ad un network internazionale identificato con la sigla UDNI (Undiagnosed Diseases Network International). Scopo del network è quello di giungere ad una diagnosi per la maggior parte dei pazienti affetti da malattie rare non diagnosticate nel mondo. Il progetto, iniziato nel 2016 e parzialmente supportato dal Ministero degli Affari Esteri, contribuisce alla raccolta di informazioni e campioni biologici relativi a pazienti con MRSD a livello globale (<http://www.udnpitaly.com/>). Presso l'ISS è stato istituito un database che si avvale del software PhenoTips per collezionare e analizzare informazioni fenotipiche e genetiche di pazienti con MRSD (<https://phenotips.org>). Gli obiettivi del progetto sono: la raccolta dei dati da pazienti italiani

con MRSD e la caratterizzazione genetico-molecolare di casi selezionati; la diagnosi in un numero consistente di pazienti italiani affetti da MRSD; lo sviluppo di strumenti bioinformatici per la condivisione dei dati a livello nazionale/internazionale; il rafforzamento delle collaborazioni internazionali. Al 31/12/2021, il nostro gruppo ha complessivamente identificato 28 pazienti e 22 familiari. L'identificazione dei casi da candidare a sequenziamento dell'esoma avviene al termine della valutazione e degli approfondimenti multidisciplinari e privilegia i seguenti criteri: a) pedigree altamente informativi in cui sia possibile analizzare sia soggetti affetti che sani; b) casi sporadici e i loro genitori (trio) con presentazione ad esordio relativamente precoce, per identificare varianti patogenetiche ereditarie de novo o recessive; c) più pazienti con un fenotipo simile e loro genitori.

Nell'ambito del progetto sono stati valutati e discussi collegialmente 20 casi (pazienti/nuclei familiari) relativi ad adulti con patologie non diagnosticate. L'approfondimento multidisciplinare e l'avvio dei conseguenti accertamenti, comprendenti la conduzione di analisi genetiche con tecniche NGS, hanno permesso di giungere alla definizione diagnostica in 3 casi.

Dei 17 casi rimanenti, 15 sono stati arruolati per eseguire una analisi WES. Lo stato di avanzamento dei lavori è stato condiviso nel workshop "Undiagnosed diseases. Experiences compared in time of COVID pandemia" svoltosi nell'ambito del 24° Convegno Patologia Immune e Malattie Orfane in data 8 Settembre 2021 a Torino.

Oltre a quelle riferibili alle principali linee di ricerca, sono state oggetto di studi condotti nel 2021 le seguenti malattie rare:

- Glomerulonefrite extracapillare
- Malattia da anticorpi anti membrana basale glomerulare
- Deficit di Lecitina-Colesterolo-Aciltransferasi.

ATTIVITA' DI RICERCA NELL'AMBITO DELLE MALATTIE ONCOLOGICHE

Nell'ambito delle malattie oncologiche, l'obiettivo principale di ricerca è di rendere più efficaci le terapie per la cura dei tumori attraverso studi che approfondiscano gli aspetti molecolari, biologici e farmacologici, per arrivare ad applicazioni cliniche in grado di migliorare la sopravvivenza e la qualità della vita di pazienti oncologici.

I progetti riguardano diversi tipi di neoplasie, però la maggioranza degli studi preclinici e clinici si focalizzano sui tumori ginecologici, sui sarcomi, sui tumori toracici (polmone, mesoteliomi e timomi) e sui tumori pancreatici con i seguenti obbiettivi comuni:

- Identificare nuovi target molecolari “druggable” e biomarkers diagnostici, prognostici e predittivi della responsività a specifiche terapie antitumorali
- Studiare la biologia dei tumori, e cioè i pathways della loro crescita, della loro neo-angiogenesi, della metastatizzazione e della loro interazione con la risposta immunitaria
- Studiare il meccanismo d'azione e delle proprietà farmacocinetiche e farmacodinamiche di nuovi farmaci antitumorali, con meccanismo d'azione innovativo in grado di agire direttamente sul tumore o sulla sua interazione con l'ospite
- Studiare i meccanismi alla base della resistenza ai farmaci antitumorali e possibili metodi per superarla
- Studiare nuove combinazioni di farmaci o del loro impiego “off-label”, sia in modelli sperimentali che in clinica

Ottimizzazione dell'utilizzo di farmaci e strategie terapeutiche mirata al miglioramento della normale pratica clinica

Principali ricadute di ricerca

a. Un ambito di eccellenza sono le ricerche sperimentali sul carcinoma ovarico, un tumore raro altamente aggressivo e resistente alle terapie. Gli studi preclinici hanno un'impronta tipicamente traslazionale e riguardano sia la comprensione delle caratteristiche biologiche di aggressività del tumore che lo sviluppo di nuovi approcci terapeutici. L'Istituto mantiene una biobanca di campioni biologici di pazienti con adenocarcinoma ovarico e una biobanca di modelli sperimentali derivati direttamente da paziente (PDX) che crescono in vivo in animali immunodeficienti. Alcuni studi hanno lo scopo di integrare le informazioni molecolari (disponibili grazie alle tecnologie omiche), con i parametri clinici per identificare determinanti molecolari con valore prognostico e diagnostico, al fine di migliorare la terapia per i pazienti. Inoltre, si stanno attivamente studiando dei marcatori in grado di predire la risposta ai composti del platino e agli inibitori della poli-ADP ribosio polimerasi, farmaci di prima linea nel trattamento del carcinoma ovarico. L'identificazione di biomarcatori predittivi permetterebbe una stratificazione migliore dei pazienti evitando di trattare quei pazienti con scarse probabilità

di rispondere alla terapia e di sottoporli quindi ad un trattamento tossico. Avendo a disposizione parecchi PDX resistenti alle terapie

Un gruppo di tumori ovarici particolarmente raro (di tipo mucinoso) è attivamente studiato a livello preclinico, caratterizzando nuovi modelli cellulari e animali che ricapitolino le caratteristiche cliniche di questo sottotipo particolarmente aggressivo e per il quale non esistono terapie mirate.

Inoltre le ricerche svolte nel dipartimento hanno portato altre importanti informazioni sulla conoscenza del metabolismo dei tumori ovarici e sull'efficacia preclinica di associazioni farmacologiche. In particolare:

1) Stiamo indagando se, i tumori ovarici caratterizzati da alti livelli di due proteine che regolano l'attività dei mitocondri, sono responsivi ad un inibitore della fosforilazione ossidativa (una delle attività dei mitocondri). Negli ultimi anni si è infatti capito che il mitocondrio può rappresentare un potenziale bersaglio terapeutico, e numerosi inibitori dell'attività dei mitocondri sono in fase di sviluppo. Lo studio è condotto su modelli preclinici di tumore ovarico.

2) Abbiamo dimostrato che la somministrazione di cediranib (un inibitore dell'angiogenesi) in combinazione con olaparib (un inibitore della poli-ADP ribosio polimerasi) migliora significativamente l'attività antitumorale, sia in termini di crescita del tumore primario che di formazione di metastasi viscerali. L'efficacia della terapia combinata era indipendentemente dalle caratteristiche proprie dei singoli tumori (quali istotipo, BRCA1/2 intatto o mutato, espressione di recettori funzionali a cediranib, sensibilità al platino e olaparib) Bizzaro et al, J Hematol Oncol (2021) 14:186

3) Il dipartimento sta indagando se l'inibizione farmacologica della proteina chinasi DNA-dipendente (DNA-PK) impatti sull'attività antitumorale della doxorubicina, sia in termini di crescita del tumore primario che di formazione di metastasi addominali.

Gli studi clinici sono volti a valutare la sicurezza e l'efficacia di nuove strategie con meccanismo d'azione innovativo. L'Istituto è promotore del gruppo cooperativo Mario Negri Gynecologic Oncology Group (MaNGO), che coordina vari centri ospedalieri per alcuni trial clinici sull'adenocarcinoma ovarico e altri tumori ginecologici.

b. Le ricerche dell'Istituto Mario Negri sui tumori rari sono sempre focalizzate allo sviluppo di nuovi modelli preclinici che aiutino a definire le caratteristiche biologiche di questi tumori e all'integrazione degli aspetti farmacodinamici con quelli farmacocinetici dei farmaci antitumorali, un aspetto che viene spesso trascurato negli studi sperimentali. L'efficacia nell'inibire la crescita tumorale viene considerata non solo in relazione alla dose ma anche alla concentrazione nel sangue e nei tessuti del farmaco. Questo è un aspetto importante per programmare meglio la terapia in clinica. A questo scopo, vengono effettuati esperimenti in vivo di attività antitumorale e di valutazione della distribuzione del farmaco (sia nell'intero organismo tramite tecniche analitiche quantitative sia nello stesso tumore tramite metodiche di imaging). Gli studi in vitro permettono di comprendere i meccanismi molecolari alla base dell'efficacia antitumorale che si riscontra in vivo con i modelli sperimentali appropriati.

c. Per i tumori toracici si stanno attivamente studiando timoma e mesotelioma, tumori rari che hanno poche terapie disponibili e per i quali scarseggiano anche i modelli preclinici. In laboratorio sono stati generati modelli PDX sia di timomi che di mesoteliomi che ricapitolano le caratteristiche dei tumori originati nel paziente e che saranno fondamentali per scoprire nuovi potenziali target per lo sviluppo di farmaci. Inoltre si stanno valutando alcune proteine coinvolte nella riparazione del DNA come biomarcatori di risposta al cisplatino nel mesotelioma. Inoltre, nell'ambito del carcinoma del polmone non a piccole cellule si sono focalizzati sulla generazione di sistemi cellulari con specifiche mutazioni che si ritrovano nei tumori umani. Sono disponibili modelli transgenici che sviluppano tumori al polmone con mutazioni caratteristiche nonché PDX ed organoidi che rappresentano un ulteriore step tra i modelli cellulari in coltura e i tumori umani. I diversi gradi di complessità di questi sistemi sono fondamentali per validare i risultati ottenuti in sistemi semplici e per accelerare la trasferibilità clinica.

d. L'istituto si occupa da tempo del microambiente tumorale, l'insieme di cellule non tumorali e di molecole che sono presenti nel tumore solido e che ne favoriscono la crescita, la resistenza alla risposta immunitaria, la formazione di metastasi a distanza e la resistenza alle terapie. Gli studi sono in particolare rivolti alle strutture vascolari e alle componenti della matrice extracellulare, che forniscono un supporto strutturale e funzionale ai tumori. Lo scopo di questa ricerca è chiarire i meccanismi che regolano l'interazione tumore-microambiente e identificare approcci terapeutici volti a modificare il microambiente dei tumori per renderlo sfavorevole alla crescita del tumore - nella sede primaria e metastatica - e potenziare l'attività di terapie antineoplastiche convenzionali.

e. L'eterogeneità dei tessuti tumorali e della distribuzione del farmaco rappresenta una delle cause che limitano l'efficacia dei trattamenti chemioterapici. L'Istituto Mario Negri si è focalizzato sullo studio quantitativo della distribuzione bi- e tri-dimensionale dei farmaci nel mesotelioma, tumore raro la cui causa principale è l'esposizione ambientale a fibre minerali come l'amianto. Abbiamo messo a punto tecniche di imaging basate sulla spettrometria di massa (Mass Spectrometry Imaging, MSI) e tecniche ad elevata sensibilità e specificità, grazie alla nuova strumentazione Orbitrap. Queste metodiche permettono di studiare in modelli di xenotrapianti l'efficacia di trattamenti che potrebbero migliorare la distribuzione del farmaco nei tessuti.

f. L'istituto svolge anche attività sperimentale mirata a valutare il possibile utilizzo dell'acido retinoico nell'ambito del trattamento personalizzato della leucemia acuta mieloide e del carcinoma mammario. L'acido retinoico è un farmaco anti-leucemico ed anti-tumorale fortemente innovativo in quanto è caratterizzato da un meccanismo d'azione molto diverso da quello dei comuni chemioterapici, non essendo un agente cito-tossico diretto, ma il primo esempio di agente cito-differenziante. Infatti, l'azione anti-tumorale dell'acido retinoico è legata alla sua capacità di indurre la differenziazione della cellula neoplastica verso una cellula che presenta caratteristiche molto più simili a quelle di una cellula normale. Visti i risultati pre-clinici incoraggianti ottenuti negli anni scorsi nell'ambito del trattamento personalizzato della leucemia acuta mieloide e del carcinoma mammario con l'acido retinoico, abbiamo deciso di allargare le nostre linee di ricerca al carcinoma gastrico, un tumore fortemente eterogeneo

per il quale mancano strategie terapeutiche al di là della resezione chirurgica. In particolare, sono in corso studi mirati a valutare il potenziale anti-proliferativo dell'acido retinoico sia su un largo pannello di linee cellulari derivate da pazienti affetti da carcinoma gastrico che su colture tissutali di tumore dello stomaco provenienti da campioni chirurgici. Questi approcci sperimentali sono utilizzati anche per mettere a punto modelli di espressione genica, basati su studi di "RNA-sequencing" a livello genomico, in grado di predire la responsività dei pazienti a trattamenti con acido retinoico. L'istituto svolge anche attività sperimentale mirata a valutare il possibile utilizzo dell'acido retinoico.

g. Il Dipartimento infine promuove e coordina studi clinici, principalmente farmacologici, di fase II e di fase III, in collaborazione con gruppi di ricerca nazionali ed internazionali. L'obiettivo principale di questi studi è la valutazione dell'efficacia di medicinali sperimentali rispetto a terapie considerate standard per una determinata patologia. Un altro fondamentale momento di ricerca si basa sul riconoscimento che la caratterizzazione genomica dei singoli tumori può ora giocare un ruolo potenzialmente molto rilevante nello sviluppo dei farmaci e nell'individualizzazione dei trattamenti. C'è inoltre molta incertezza intorno al ruolo dei biomarcatori nello sviluppo dei farmaci e l'implementazione delle tecnologie genomiche negli studi clinici ed è necessario riuscire a migliorare la metodologia e ad anticipare la valutazione dei biomarcatori già nelle fasi precoci di ricerca così da permettere che la ricerca traslazionale passi da una semplice ricerca di correlazioni alla produzione di conoscenze sul ruolo predittivo dell'attività clinica dei trattamenti in studio. Sempre nel campo della ricerca valutativa all'interno del Dipartimento vi sono attività di ricerca e di formazione nell'ambito del: dolore cronico (con particolare attenzione all'uso dei farmaci oppioidi);, fattori predittivi di sopravvivenza in malati in fase avanzata di malattia tumorale; e programmi formativi e valutativi in relazione all'appropriatezza prescrittiva e terapeutica nei malati a fine vita.

ATTIVITA' DI RICERCA NELL'AMBITO DELLE MALATTIE CARDIOVASCOLARI

I laboratori afferenti al Dipartimento di Medicina Cardiovascolare (nato dalla lunga esperienza degli studi GISSI - Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto miocardico) sviluppano attività di ricerca che coprono sia l'area sperimentale e di ricerca di base, sia quella della valutazione clinica ed epidemiologica di farmaci, di strategie diagnostico-terapeutiche, di fattori di rischio delle malattie cardiovascolari. Il Dipartimento privilegia progetti di ricerca a forte impronta collaborativa e multicentrica, anche per quanto riguarda lo studio di biomarcatori di rischio cardiovascolare che si interfaccia con la clinica.

Una biobanca certificata ISO 9001:2015 (campioni di più di 20000 pazienti con differenti patologie sono conservati a -70°C) è co-gestita con il Dipartimento di Oncologia e permette diversi progetti collaborativi nazionali e internazionali.

L'attività di ricerca pre-clinica riguarda principalmente l'arresto cardiaco e la rianimazione cardiopolmonare. In particolare sono in corso studi che valutano gli effetti di interventi farmacologici sulla sindrome post arresto cardiaco, caratterizzata da danno cerebrale, cardiaco e dall'attivazione di processi infiammatori. Tecniche di istologia, immunoistochimica e di imaging cerebrale e cardiaco completano le osservazioni di emodinamica e fisiopatologia effettuate in diversi modelli sperimentali, che includono ratto, topo e maiale. Inoltre, sono oggetto di studio anche nuovi approcci terapeutici, testati in modelli sperimentali di distrofia muscolare e infarto del miocardio.

L'attività di ricerca clinica riguarda la valutazione clinica di farmaci e di strategie terapeutiche in ambito ospedaliero con la conduzione di sperimentazioni cliniche di grandi dimensioni in patologie di forte impatto epidemiologico quali lo scompenso cardiaco, le sindromi coronariche acute e la fibrillazione atriale; uno spazio è inoltre dedicato all'epidemiologia clinica e alla valutazione dei fattori di rischio dell'infarto miocardico, a cui si sono affiancati più recentemente studi di epidemiologia genetica focalizzati all'identificazione di nuovi geni e alla definizione del ruolo di geni candidati come responsabili della cardiopatia ischemica attraverso analisi di linkage familiare e studi di associazione su polimorfismi genetici.

La collaborazione con una vasta rete di Medici di Medicina Generale ha consentito da anni la realizzazione di attività di ricerca clinica ed epidemiologica, specificamente originali nel panorama italiano, nell'ambito della prevenzione cardiovascolare attraverso sperimentazioni cliniche di grandi dimensioni. Una parte dell'attività è orientata alla valutazione della reale trasferibilità degli interventi preventivi di provata efficacia nella pratica clinica quotidiana attraverso studi epidemiologici e di outcome research, e alla farmacoepidemiologia a partire dalle analisi delle prescrizioni di grandi data-base amministrativi.

Per la conduzione degli studi clinici il Dipartimento di Medicina Cardiovascolare si avvale di monitor clinici, che sovrintendono alla corretta conduzione degli studi gestiti dal dipartimento oppure fornisce servizi come CRO per esterni.

Tra i principali studi in corso:

a. Effetto neuroprotettivo dell'argon nell'arresto cardiaco. Recentemente si è dimostrato che i gas nobili possiedono un'attività cardio- e neuro-protettiva dopo eventi ischemici. Abbiamo riportato in precedenza gli effetti neuroprotettivi nel maiale della ventilazione dopo arresto cardiaco di media durata con una miscela di argon al 70% in ossigeno. Studi successivi sono stati svolti con lo scopo di confermare tale effetto benefico dell'argon su un modello più grave di arresto cardiaco e sono ora in fase di pubblicazione. Ventiquattro maiali sono stati preparati chirurgicamente per essere sottoposti ad un infarto del miocardio e ad arresto cardiaco della durata di 12 minuti, seguiti da rianimazione cardiopolmonare e ventilazione con una miscela sperimentale di argon/ossigeno o controllo con azoto/ossigeno. Lo studio ha confermato anche su questo modello grave di arresto cardiaco che la ventilazione con argon migliora significativamente la sopravvivenza con un buon recupero neurologico, valutato tramite tre differenti test neurologici standardizzati per il maiale. Il buon recupero neurologico è stato anche supportato da minori livelli circolanti di enolasi neuronale specifica, un biomarcatore di danno cerebrale, e da un minore danno tissutale come osservato dalle analisi istopatologiche. Successivamente abbiamo condotto nuovi studi per testare differenti concentrazioni di argon, ad esempio 50% rispetto al 70%, e differenti tempistiche di inizio della somministrazione. Abbiamo dimostrato che la protezione cerebrale è maggiore a dosi crescenti di argon, mentre è indipendente dall'inizio trattamento. Infine, è stato testato sul grosso animale un nuovo ventilatore clinico per la somministrazione di argon all'uomo e si è preparato il protocollo clinico per il primo trial di fase I. Lo studio è stato approvato da Istituto Superiore di Sanità e da AIFA, il centro clinico coordinatore, Policlinico di Milano, Anestesia e Rianimazione, è stato autorizzato da AIFA a condurre studi di Fase 1. In gennaio 2022 inizierà la inclusione di pazienti in questo studio randomizzato. Anche la Anestesia e Rianimazione dell'Ospedale San Gerardo di Monza partecipa allo studio.

b. Lo studio clinico controllato Treat_CCM sul propranololo nei **cavernomi** cerebrali familiari, una malattia rara, si è concluso il 31 ottobre 2021: i risultati saranno disponibili in febbraio 2022

c. Lo studio SECURE sull'efficacia della polipillola nella prevenzione degli eventi cardiovascolari nei pazienti con **infarto miocardico** si è concluso 31.10.2021. I risultati saranno presentati a fine Agosto 2022 nell'ambito del Congresso della Società Europea di Cardiologia.

d. Il trial controllato multicentrico Reboot ha l'obiettivo di cambiare le linee guida di pratica clinica relative all'impiego dei beta bloccanti dopo infarto miocardico acuto. Obiettivo è reclutare 8.500 pazienti.

e. Nel trial ALBIOSS-BALANCED per confrontare le differenti strategie di terapia fluidica per il sostegno circolatorio e la perfusione d'organo per la sopravvivenza a 90 giorni e per la funzionalità renale. Obiettivo: reclutamento di 1250 pazienti.

f. Di recente è iniziato uno studio di fase 1/2, il “CardioPulmonary resuscitation with Argon (CPAr) trial”, che ha come obiettivo valutare gli effetti neuro-protettivi dell'Argon in pazienti rianimati da un arresto cardiaco. Un'altra area di interesse è quella delle malattie rare in particolare è stato concluso un trial di Fase 2, Treat_CCM, sulla malformazione cavernosa cerebrale (CCM) familiare. Scopo dello studio è valutare la sicurezza e ottenere prime

evidenze di efficacia del propranololo in questa patologia per la quale non esistono ad oggi trattamenti efficaci al di fuori della neurochirurgia.

ATTIVITA' DI RICERCA NELL'AMBITO MALATTIE AMBIENTALI

a. Studi di predizione della tossicità degli inquinanti mediante metodologie in silico. Questa linea di ricerca ha permesso di ottenere dei riconoscimenti e ha favorito la partecipazione a progetti e reti a livello internazionale. Nel biennio 2019-2020 sono stati sviluppati diversi numerosi modelli in silico per predire la tossicità di sostanze chimiche e nanoparticelle consentendo, attraverso i software presenti sul sito VEGA (www.vegahub.eu), il loro inserimento nell'OECD Toolbox, la loro introduzione nelle procedure adottate da organismi internazionali e nazionali, quali l'Agenzia Europea per le Sostanze Chimiche (ECHA), l'Agenzia Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA), il Governo Tedesco e l'Associazione Europea delle Industrie Chimiche (CEFIC - piattaforma AMBIT)). Le applicazioni hanno riguardato anche l'impatto sulla salute in relazione alla presenza di contaminanti emergenti nei fiumi e la genotossicità di nanomateriali.

b. Valutazione degli **effetti di pesticidi neonicotinoidi sullo sviluppo del sistema nervoso centrale**. Questi inquinanti sono presenti in modo ubiquitario nell'ambiente e negli alimenti e mostrano proprietà neurotossiche in modelli animali e colture cellulari di topo e uomo.

c. Analisi dei residui metabolici nei reflui urbani per stimare l'**esposizione della popolazione a xenobiotici ambientali** e valutare i rischi per la salute umana. Questa metodologia rappresenta un punto di eccellenza dell'Istituto. Inizialmente sviluppata per stimare il consumo di droghe d'abuso, è stata poi proposta come metodo complementare agli studi di biomonitoraggio per valutare l'esposizione umana a contaminanti ambientali e alimentari, potenziali cause di patologie nei soggetti esposti. Un primo esempio è dato dallo sviluppo di un metodo per la stima dell'esposizione della popolazione ai pesticidi, presenti negli alimenti vegetali, a livello europeo ed internazionale. La metodologia è stata successivamente ampliata per studiare l'esposizione ad altri contaminanti dei cibi quali le micotossine, monitorando la presenza di specifici metaboliti urinari. Lo stesso approccio viene anche applicato per valutare l'aderenza ai trattamenti per farmaci ad uso cronico, è stato recentemente condotto un primo studio pilota a livello nazionale.

d. Studi sulla diffusione in Italia e in Europa dell'esposizione al **fumo passivo**, agli aerosol della sigaretta elettronica e ai nuovi prodotti a tabacco riscaldato (quali IQOS). Nello specifico: i) conduzione di uno studio longitudinale sulla sigaretta elettronica in collaborazione con i centri antifumo italiani afferenti ad AIPO; ii) partecipazione alla seconda edizione del progetto collaborativo europeo Joint Action on Tobacco Control (JATC 2) volto a garantire la qualità dei controlli degli ingredienti e delle emissioni dei prodotti di tabacco e delle sigarette elettroniche.

e. Studi sulla presenza di inquinanti in atmosfera, nel suolo, nelle acque e nei rifiuti, e modalità di riduzione del loro impatto, attraverso la valutazione integrata degli effetti, e delle soluzioni tecnologiche atte a sostituire o migliorare i processi con impatto maggiore, ad esempio tramite lo sviluppo di nuovi materiali per freni di autoveicoli.

ATTIVITA' DI RICERCA NELL'AMBITO MALATTIE RENALI

a. La nefropatia diabetica. La nefropatia diabetica è una delle principali complicanze associate al diabete che coinvolge il rene. L'attuale terapia farmacologica della nefropatia diabetica non è sempre efficace nel limitare la progressione della malattia verso l'insufficienza renale terminale, che richiede di ricorrere a terapie sostitutive costose, quali la dialisi e il trapianto.

- Studi preclinici con farmaci innovativi. Studi precedenti condotti dal nostro Istituto in topi BTBR ob/ob, che sviluppano nefropatia diabetica di tipo 2, hanno dimostrato che il trattamento con empagliflozin (un inibitore del co-trasportatore sodio-glucosio di tipo 2 – SGLT2), limitava lo sviluppo di albuminuria preservando l'ultrastruttura dell'endotelio glomerulare, che era completamente sovvertita in questi animali. Abbiamo ora studiato i possibili meccanismi attraverso i quali empagliflozin preserva l'endotelio glomerulare. In questi topi diabetici abbiamo documentato la presenza di caveole e diaframmi tra le fenestrature, in associazione rispettivamente ad un'aumentata espressione di caveolina-1 e alla comparsa di PV-1, proteine coinvolte nella regolazione della permeabilità endoteliale. Queste anomalie endoteliali erano limitate dal trattamento con empagliflozin. Abbiamo visto che SGLT2 non era espresso sulle cellule endoteliali glomerulari, escludendo un'azione diretta di empagliflozin sull'endotelio. SGLT2 era invece espresso nei podociti dei topi diabetici. Partendo dall'evidenza che l'espressione di caveolina-1 e PV-1 sull'endotelio può essere regolata da VEGF-A, che è noto essere prodotto dai podociti, abbiamo dimostrato che i livelli di VEGFA erano aumentati nei podociti dei topi BTBR ob/ob e normalizzati dal trattamento con SGLT2i. In conclusione, empagliflozin riducendo l'espressione di VEGF-A nei podociti limitava l'alterata espressione di caveolina-1 e la ricomparsa di PV-1 a livello endoteliale, preservando così la funzione dell'endotelio glomerulare e la sua permeabilità. I risultati di questo studio sono stati descritti in un manoscritto sottomesso nel 2021 al Journal of Pathology (Locatelli M et al).

Un altro studio si propone di valutare il ruolo patogenetico di C3a, generato dalla scissione della componente C3 del sistema del complemento, a livello dei podociti nello stesso modello sperimentale di nefropatia diabetica. I risultati ottenuti hanno mostrato che topi BTBR ob/ob con nefropatia diabetica avevano alti livelli glomerulari di C3a e del suo recettore C3aR, associati a disfunzione e perdita di podociti e a un aumento progressivo dell'escrezione urinaria di albumina. Il trattamento con un antagonista recettoriale di C3a limitava l'albuminuria, la perdita e la disfunzione dei podociti, riducendo le alterazioni strutturali e funzionali dei mitocondri e lo stress ossidativo in queste cellule. L'analisi del profilo trascrizionale di glomeruli isolati da topi BTBR ob/ob trattati con veicolo o con un antagonista recettoriale di C3a mostrava che la condizione diabetica alterava numerosi processi biologici a livello glomerulare. Tra questi, quelli relativi alla motilità, all'organizzazione del citoscheletro e all'interazione con la matrice extracellulare venivano normalizzati dal trattamento con

l'antagonista recettoriale di C3a, suggerendo che queste vie intracellulari sono modulati dall'attivazione dell'asse C3a/C3aR. Ulteriori studi sono in corso per individuare gli specifici mediatori molecolari coinvolti in questi processi biologici sia in vivo in tessuti renali di animali BTBR ob/ob trattati o meno con un antagonista recettoriale di C3a che in podociti in coltura esposti a C3a.

Studi precedenti dell'Istituto hanno dimostrato che il diabete in ratti ZDF induce una serie di alterazioni nella via di segnalazione dell'ormone tiroideo (TH) le quali, a loro volta, hanno un ruolo centrale nei cambiamenti strutturali, metabolici e funzionali nel rene. Studi più recenti hanno documentato che in questi animali il trattamento con triiodotironina (T3, la forma attiva di TH), attraverso l'attivazione del recettore TR α 1, è risultato efficace nel revertire/arrestare la riprogrammazione fetale (FR) e nel ridurre fibrosi, danno ed ipertrofia a carico dei podociti. Inoltre, la somministrazione di T3 ha ridotto significativamente il contenuto di DNA cellulare (poliploidia) in cardiomiociti e podociti di ratti ZDF, suggerendo che il trattamento con TH è in grado di normalizzare il ciclo cellulare. Infine, i nostri studi indicano che anche nel cuore, così come osservato nel rene, la somministrazione di T3 riduce l'espressione di marcatori fetali indotta dallo stress diabetico nei ratti ZDF ed è efficace nel ridurre, anche se non significativamente, la fibrosi osservata nel tessuto cardiaco di ratti diabetici. Questi ultimi risultati sono stati confermati anche da studi in vitro su cardiomiociti e sferoidi cardiaci ottenuti dal differenziamento di iPSCs. Abbiamo poi valutato se il pathway dell'ormone tiroideo avesse un ruolo anche nella patogenesi del diabete, studiando gli effetti del trattamento con T3 sulle isole beta pancreatiche nel nostro modello animale (ratto ZDF).

- **Studio DEMAND.** Utilizzando la coorte di pazienti con diabete di tipo 2, ipertesi non proteinurici che in precedenza avevano partecipato al nostro trial DEMAND, sono stati approfonditi i meccanismi di perdita progressiva della funzione renale dei pazienti diabetici con nefropatia. I risultati dimostrano che maggiore è la durata dell'ipertensione arteriosa e dell'aumentato rapporto delle resistenze pre/post glomerulari (Ra/Re), più rapida è la riduzione di GFR in questi pazienti diabetici, ipertesi, non-proteinurici. Questi risultati possono contribuire a comprendere i meccanismi che mediano la progressione della malattia renale cronica nelle sue fasi precoci, in particolare pazienti ipertesi con diabete di tipo 2 (Carrara F et al, Acta Diabetol 2021; E-pub).

- **Studio VARIETY.** L'obiettivo di questo studio, promosso dall'Istituto, è quello di valutare se, a livelli paragonabili di pressione arteriosa, la combinazione ACE inibitore ed ARB sia più efficace dei due farmaci somministrati singolarmente nel ridurre l'incidenza di microalbuminuria in 612 pazienti diabetici di tipo 2 ipertesi e con valori di albuminuria al limite superiore della normalità. I risultati dimostrano che durante un follow-up mediano di 66 mesi a parità di controllo pressorio, la terapia combinata con ACE inibitore benazepril e ARB valsartan (a dosi dimezzate rispetto a quelle standard raccomandate come anti-ipertensivi) non ha un effetto protettivo nel rallentare la comparsa di microalbuminuria rispetto a quello del trattamento in monoterapia alle dosi piene raccomandate di ciascun farmaco in una coorte omogenea di pazienti ad alto rischio di progressione della malattia diabetica. D'altra parte, l'effetto protettivo sullo sviluppo di microalbuminuria era paragonabile tra i due trattamenti singoli benazepril o valsartan. Nell'insieme, questi risultati indicano che il doppio blocco del

sistema renina-angiotensina non è preferibile al singolo trattamento con benazepril o valsartan nel prevenire la microalbuminuria in pazienti con diabete di tipo 2 e normoalbuminuria (Ruggenenti P et al, PLoS Med 2021 ; 18 : e1003691).

- **Trial clinici collaborativi internazionali.** L'Istituto partecipa a diversi trial clinici collaborativi internazionali che valutano l'efficacia degli inibitori dell'aldosterone nella nefropatia diabetica. Nel trial FIGARO/DKD, da poco terminato, i pazienti con diabete di tipo 2 e nefropatia trattati con finerenone (n=3686) durante un follow-up mediano di 3.4 anni, avevano un rischio minore di eventi cardiovascolari (end point primario) rispetto a quello del gruppo controllo trattato con placebo (n=3666) in aggiunta alla terapia standard. Questi risultati suggeriscono che finerenone può essere una terapia aggiuntiva al trattamento con ACE inibitori o ARBs valida per limitare il rischio di eventi cardiovascolari fatali e non fatali in pazienti diabetici con nefropatia lieve, moderata, o severa (Pitt B et al, N Engl J Med, 2021; 385(24):2252-2263).

Lo studio CONCORD, un trial internazionale, è stato recentemente disegnato per valutare la sicurezza e l'efficacia di dosi orali titolate individualmente di runcaciguat, un attivatore della sguanilato ciclastasi solubile (sGC), in soggetti con diagnosi clinica di malattia renale cronica con diabete e/o ipertensione e almeno una comorbidità cardiovascolare. E' il primo studio a valutare l'efficacia e la sicurezza di runcaciguat in pazienti con diabete di tipo 2 e/o ipertensione con nefropatia cronica e a raggiungere una dimostrazione di fattibilità (proof-of-concept) per ulteriori fasi di sviluppo. L'Istituto partecipa come uno dei Centri Clinici del trial internazionale multicentrico.

-**Studio CRESO2.** L'obesità contribuisce in modo significativo ad aumentare il rischio di insorgenza del diabete di tipo 2, oltre ad essere un fattore di rischio indipendente per malattie cardiovascolari, ipertensione arteriosa e malattia renale cronica in almeno un terzo dei pazienti. L'Istituto ha disegnato il trial clinico CRESO2 con l'obiettivo di definire il ruolo della restrizione calorica sui meccanismi fisiopatologici che determinano la comparsa e la progressione della malattia renale cronica in 103 soggetti obesi affetti da diabete di tipo 2, già in trattamento con una terapia farmacologica ottimale. Lo studio ha dimostrato che, in pazienti in sovrappeso o obesi e diabete di tipo 2 e normo o micro-albuminurici, la restrizione calorica potrebbe rappresentare un'opzione terapeutica aggiuntiva per rallentare l'inizio o la progressione della malattia renale e, da ultimo, limitare l'eccessiva morbidità cardiovascolare che caratterizza questa popolazione.

b. Malattie renali croniche non diabetiche. Le malattie renali croniche rappresentano una causa importante di morbidità-mortalità nella popolazione generale, e costituiscono un problema di salute pubblica. Sono una condizione di persistente e progressivo deterioramento della funzione renale dovuta a cause immunologiche e non immunologiche, e/o genetiche, per cui spesso mancano terapie efficaci.

- **Studi pre-clinici per prevenire le malattie renali croniche.** Diversi studi suggeriscono che le malattie renali nell'individuo adulto abbiano origine durante la vita intrauterina, periodo durante il quale viene determinato il numero di nefroni, le unità funzionali del rene. Infatti, uno sviluppo embrionale alterato può portare ad avere alla nascita un basso numero di nefroni

che si associa a maggiore rischio di sviluppare ipertensione e danno renale. L'Istituto ha studiato il ruolo di una proteina mitocondriale, la sirtuina 3 (SIRT3) nello sviluppo embrionale del rene. I risultati mostrano che la SIRT3 durante lo sviluppo renale agisce come de-2-idrossiisobutirilasi su proteine istoniche e non istoniche quali la fosfofruttochinasi un enzima importante nella regolazione della glicolisi (Perico L et al, Scientific Reports, 2021; 11(1).23580). Nel nostro studio abbiamo evidenziato che la regolazione epigenetica e metabolica da parte di SIRT3 determina una corretta nefrogenesi e influenza il numero finale di nefroni. Infatti, una mancanza di SIRT3 compromette la ramificazione della gemma ureterale e riduce i progenitori renali portando ad una riduzione permanente del numero di nefroni. Studi in corso sono focalizzati a studiare terapie che hanno SIRT3 come target per normalizzare la nefrogenesi. A questo scopo, abbiamo messo a punto in topi wild type un modello di basso numero di nefroni indotto da una dieta a basso contenuto proteico durante la gestazione. Negli animali nati da madri nutrite con una dieta a ridotto contenuto di proteine, il basso numero di nefroni si associava ad una ridotta espressione di SIRT3 nel rene. In questo modello, stiamo studiando l'effetto della nicotinamide riboside (NR), precursore del NAD⁺ da cui dipende l'attività della SIRT3. Abbiamo osservato che la dieta a basso contenuto proteico, associata a somministrazione di NR durante la gravidanza, migliorava il numero di nefroni della progenie. Il nostro obiettivo è ora quello di capire i meccanismi molecolari alla base della normalizzazione della nefrogenesi indotta dall'NR.

Abbiamo messo a punto nel ratto un modello di glomerulonefrite rapidamente progressiva ANCA-associata, una delle forme più severe di malattia renale responsabile di insufficienza renale terminale. La malattia è caratterizzata dallo sviluppo di vasculite sistemica dei piccoli vasi associata alla produzione di auto-anticorpi, ANCA, diretti contro proteine citoplasmatiche dei neutrofili come la mieloperossidasi (MPO). Gli ANCA oltre ad essere markers sierologici della malattia contribuiscono alla sua patogenesi attraverso l'attivazione dei neutrofili. La malattia è stata indotta in ratti Wistar Kyoto attraverso l'immunizzazione con MPO ricombinante umana e una dose subnefritogenica di anticorpi diretti contro la membrana basale glomerulare del ratto. Abbiamo caratterizzato le popolazioni cellulari glomerulari coinvolte nella formazione delle lesioni tipiche di questa patologia, i "crescents" o semilune. Tali lesioni sono costituite principalmente da cellule infiammatorie attivate e da cellule parietali epiteliali che originano dalla capsula di Bowman e che si attivano, proliferano ed invadono la matassa glomerulare nel tentativo di compensare la perdita dei podociti che si verifica in seguito al danno. Questo modello riproduce le lesioni istologiche tipiche della glomerulonefrite rapidamente progressiva dell'uomo e verrà utilizzato per identificare nuovi approcci farmacologici. Questo è un obiettivo molto importante, considerando che la terapia attuale utilizza farmaci immunosoppressori che hanno considerevoli effetti collaterali, efficacia incompleta o associazione a recidive (Cerullo D et al, Nephron 2021;145:428-444).

- **Studio ADAPT.** L'Istituto ha disegnato uno studio (ADAPT) di fase 2b, che ha l'obiettivo primario di valutare se l'inibitore SGLT2 dapagliflozin migliora l'iperfiltrazione glomerulare e riduce la proteinuria rispetto al placebo in pazienti non diabetici con CKD, in particolare in quelli a più alto rischio di progressione a ESKD a causa dell'insufficienza renale severa (stadio IV CKD) e proteinuria (maggiore 0.5 g/24h). Per ciascun paziente, lo studio ha una durata complessiva di 24 settimane.

- **Studio ARCADIA.** Un trial multicentrico, randomizzato che ha come obiettivo principale di valutare se la terapia con ACE inibitori riduce la mortalità e la morbidità per eventi cardiovascolari in pazienti con insufficienza renale terminale ad alto rischio perché ipertesi e/o con ipertrofia ventricolare sinistra (LVH) in terapia emodialitica cronica da più di 6 mesi. Per lo studio sono stati arruolati 269 pazienti con ipertensione e/o ipertrofia ventricolare sinistra in 28 centri italiani. Lo studio ha dimostrato che durante un follow-up di 42 mesi, l'ACE inibitore ramipril non modifica in modo significativo il rischio di raggiungere l'endpoint combinato di morte cardiovascolare, infarto del miocardio, o ictus, rispetto al gruppo in terapia antipertensiva con farmaci non inibitori RAS, in pazienti con ipertensione e/o ipertrofia ventricolare sinistra. Tuttavia, come risultato innovativo si è osservato l'effetto protettivo di ramipril sullo sviluppo e progressione dell'ipertrofia ventricolare sinistra, e sulla comparsa di fibrillazione atriale (nuova o ricorrente). (Ruggenenti P et al, Clin J Am Soc Nephrol 2021 ; 16 : 575-587)

- **Studio in pazienti emodializzati.** Il deficit di vitamina D aumenta il rischio di mortalità in pazienti con malattia renale cronica. Il gruppo di studio Metabolismo Minerale della Società Italiana di Nefrologia in collaborazione con l'Istituto, ha condotto uno studio con l'obiettivo di verificare l'efficacia della supplementazione di calcifediolo nel ridurre la mortalità in pazienti con deficit di vitamina D in trattamento emodialitico. E' uno studio di fase III, multicentrico, condotto in 284 pazienti in emodialisi con deficit da vitamina D, randomizzati a ricevere calcifediolo per via orale o semplicemente terapia standard per 24 mesi. I risultati hanno dimostrato che la supplementazione di calcifediolo non limita la mortalità, né migliora la frequenza degli eventi cardiovascolari rispetto alla terapia standard nei pazienti emodializzati con deficit di vitamina D (Morrone L et al, J Nephrol 2021; E-pub).

- **Meta-analisi sulla progressione delle nefropatie croniche.** Un problema rilevante nel disegnare e condurre trial clinici randomizzati (RCTs) in pazienti con malattia renale cronica (CKD) è che l'insufficienza renale normalmente si sviluppa nell'arco di un lungo periodo di tempo. Studi clinici che valutano gli effetti di farmaci sull'evento progressione verso l'insufficienza renale della CKD richiedono un lungo periodo di follow-up. Di conseguenza, ci sono stati numerosi sforzi di ricercatori, autorità regolatorie, e industrie farmaceutiche per identificare end point alternativi solidi all'insufficienza renale terminale, soprattutto per le fasi precoci di CKD e per trials di fase II/III. Il nostro Istituto, in collaborazione con numerosi ricercatori del gruppo internazionale CKD-EPI ClinicalTrials ha condotto una meta-analisi con l'obiettivo di descrivere la natura e l'entità degli effetti acuti di trattamenti farmacologici su GFR in RCTs in cui si era valutata la progressione della malattia renale, e di verificare la consistenza degli effetti acuti in relazione ad alcune caratteristiche importanti di ciascuno studio, inclusi, tipo di intervento, GFR e albuminuria. La meta-analisi è stata condotta su 53 trial clinici randomizzati con più di 56000 pazienti arruolati. I risultati dello studio hanno documentato che l'entità e la consistenza degli effetti acuti sul GFR varia notevolmente a seconda dei differenti interventi farmacologici, e sono maggiori per valori più elevati di GFR al basale. Queste informazioni possono essere di aiuto nell'ottimizzare il disegno di trial clinici randomizzati che valutano la progressione della malattia in pazienti con CKD (Neuen B et al, J Am Soc Nephrol, Epub 2021).

c. Trapianto di rene. L'Istituto, che da anni fa ricerca pre-clinica e clinica nel campo del trapianto di rene si è dedicato ultimamente al problema del rigetto cronico e alle possibili strategie di prevenzione, e agli approcci di perfusione del rene pre-trapianto per minimizzare il danno da ischemia/riperfusion.

- **Studio ATHENA.** L'introduzione della triplice terapia immunosoppressiva nel trapianto di rene, costituita da un inibitore della calcineurina, steroidi, e azatioprina (AZA) o micofenolato mofetile (MMF), ha notevolmente ridotto l'incidenza del rigetto cellulare acuto, a fronte di effetti tossici sistemici o locali a volte severi. Ridurre la terapia immunosoppressiva a lungo termine, preservando la funzione dell'organo trapiantato è uno degli obiettivi della medicina del trapianto. L'Istituto ha disegnato, coordinato e condotto lo studio ATHENA in collaborazione con 6 centri clinici in Italia con l'obiettivo di comparare la sicurezza e l'efficacia di MMF o AZA in 233 pazienti trapiantati di rene da donatore deceduto trattati inizialmente con terapia di induzione con basse dosi di timoglobuline e basiliximab, e mantenuti con basse dosi di CsA, dopo aver sospeso la terapia steroidea nella prima settimana post-trapianto. Durante un follow-up mediano di 48 mesi, la sopravvivenza del trapianto e del paziente e la funzione renale a 3 anni erano simili nel gruppo trattato con MMF e in quello con AZA. I risultati dimostrano che in pazienti con trapianto di rene da donatore cadavere trattati a lungo termine con basse dosi di CsA, e senza steroidi, MMF e AZA hanno un profilo rischio/beneficio comparabile. Tuttavia, dato il più basso costo, AZA potrebbe sostituire con sicurezza MMF anche in combinazione con terapia immunosoppressiva di mantenimento minimizzata (Ruggenti P et al, PLoS Med 2021; 18: e1003668).

- **Studio PREDICTION.** Studio disegnato dall'Istituto per ottimizzare l'utilizzo di reni da donatori anziani con l'obiettivo di determinare la relazione tra il quadro istologico del rene preimpianto e i parametri emodinamici dell'organo durante la perfusione ex-vivo, e se i parametri morfo-funzionali predicono la ripresa della funzione renale nell'immediato post trapianto e la funzione dell'organo a lungo termine in pazienti che hanno ricevuto uno o due reni da donatori marginali valutati istologicamente. I risultati dello studio in 20 pazienti con trapianto di rene da donatore marginale anziano dimostrano che le resistenze vascolari intraparenchimali erano correlate allo score istologico preimpianto e si riducevano considerevolmente durante la perfusione pulsatile, in particolare quando le lesioni istologiche erano più marcate. Inoltre, lo score istologico, ma non le resistenze vascolari, era associato ai valori di funzione renale a 6 mesi dopo il trapianto. Un aspetto importante di novità dello studio è che lo score istologico preimpianto si associava alla ripresa della funzione del rene trapiantato marginale anche nel contesto di un programma standardizzato di perfusione pulsatile (Carrara C et al, Nephron 2021; 145: 137-149).

- **Studio a lungo termine DKG.** È uno studio di coorte con l'obiettivo di confrontare l'esito a lungo termine (fino a 10 anni post trapianto) di 98 pazienti che avevano ricevuto un trapianto di rene singolo o doppio da donatori anziani/marginali, allocati secondo i criteri istologici di DKG (Double Kidney Transplant Group), con quello di 198 pazienti che, durante lo stesso periodo di osservazione e nella stessa istituzione, avevano ricevuto un singolo rene da donatore di età inferiore a 60 anni (donatori giovani), utilizzati secondo criteri standard. I

risultati hanno dimostrato che l'approccio di selezione sulla base della biopsia pre-trapianto di reni da donatori anziani/marginali permette di aumentare in sicurezza l'attività di trapianto dei centri nella pratica clinica, senza ridurre la sopravvivenza a lungo termine degli organi trapiantati. Questo approccio può essere d'aiuto nel ridurre la differenza crescente tra la richiesta di reni da trapiantare e l'effettiva disponibilità di questi organi senza intaccare la sopravvivenza del trapianto e del ricevente a lungo termine (Bikbov B et al, Nephron 2021; 145 : 642-652).

d. Terapie innovative per le malattie renali e per il trapianto di rene. L'Istituto ha interesse di ricerca primario nelle terapie farmacologiche/cellulari innovative per la cura delle malattie renali e per il trapianto d'organo, come riassunto brevemente di seguito.

- **Studi preclinici di rigenerazione tissutale.** Studi recenti nell'ambito delle malattie renali acute e croniche hanno documentato che le cellule mesenchimali stromali umane da cordone ombelicale (ucMSC) e i loro prodotti biologici hanno ottime capacità terapeutiche. Un gruppo di ricercatori del nostro Istituto ha dimostrato in modelli di insufficienza renale acuta che il medium condizionato e le vescicole extracellulari (EV) ottenute dalle ucMSC hanno un effetto renoprotettivo simile a quello ottenuto dalle cellule di origine. Dati di "gene array analysis" di cellule renali danneggiate ed esposte alle ucMSC hanno evidenziato che l'effetto protettivo delle EV è legato alla loro capacità di incrementare il metabolismo energetico dei mitocondri, la cui attività è stata danneggiata dalla malattia renale. I dati in vitro hanno confermato che l'esposizione a EV riduceva le alterazioni mitocondriali e lo stress ossidativo nelle cellule danneggiate, portando ad una riduzione della mortalità. Nell'ottica di incrementare ulteriormente la capacità terapeutica delle EV e di poterla applicare anche a modelli di danno renale cronico, stiamo conducendo studi per modificare il contenuto genetico delle EV in modo che risulti arricchito di mRNA rilevanti per il metabolismo mitocondriale. Queste ricerche permettono di chiarire se le EV modificate possano rappresentare uno strumento più efficiente rispetto alle terapie cellulari nella cura delle malattie renali.

Caratteristiche distintive della nefropatia diabetica e della cardiomiopatia diabetica sono la de-differenziazione cellulare, l'ipertrofia e la proliferazione anomala, e la riattivazione dei segnali propri dello sviluppo. Studi pre-clinici e fasi iniziali di studi clinici indicano che il trattamento con l'ormone tiroideo (TH) potrebbe rivelarsi una potenziale strategia per prevenire o bloccare la riattivazione dei programmi di sviluppo degli organi. Tuttavia, la necessità di utilizzare alte dosi di TH per stimolare i processi riparativi e rigenerativi negli organi danneggiati ne limita fortemente l'utilizzo nella pratica clinica, a causa dei possibili effetti avversi dovuti all'attivazione di un pathway con funzioni pleiotropiche. Abbiamo disegnato un progetto per sviluppare sistemi di rilascio mirato del farmaco innovativi, basati su nanoparticelle, in grado di riconoscere e rilasciare l'ormone tiroideo selettivamente nelle cellule danneggiate dallo stress diabetico per ripristinare la funzionalità cardiaca e renale e, possibilmente, rigenerare i tessuti danneggiati. È stata testata in vitro la tossicità e la specificità di due differenti sistemi di nanotrasportatori, basati rispettivamente su nanoliposomi e nanopolimeri. I risultati ottenuti indicano che entrambi i sistemi di nanotrasportatori non inducono citotossicità e risultano specifici per le cellule danneggiate da elevati livelli di glucosio. Studi successivi preliminari in

un modello di diabete di tipo 2 in ratti ZDF hanno dimostrato che i nanotrasportatori sviluppati sono ben tollerati, e non inducono segni di tossicità in vivo. Sono attualmente in corso studi di specificità in vivo, per determinare la capacità dei nanotrasportatori di rilasciare TH selettivamente nel rene e nel cuore dei ratti diabetici.

Altri studi pre-clinici innovativi partono dall'osservazione che nei pazienti affetti da malattia renale cronica (MRC) i fibroblasti dello stroma renale, normalmente deputati alla produzione di eritropoietina (EPO), trans-differenziano in miofibroblasti. Il cambiamento fenotipico di queste cellule causa l'incapacità di produrre EPO, con conseguente sviluppo di anemia. Per questa complicanza, i pazienti con MRC sono trattati con EPO umana ricombinante, che spesso causa numerosi effetti collaterali e ha costi molto elevati per il Sistema Sanitario Nazionale. Per questo l'Istituto ha attivato un progetto i cui obiettivi sono: i) stabilire in un protocollo di differenziamento di cellule staminali pluripotenti indotte per generare cellule in grado di produrre EPO in vitro; ii) caratterizzare le cellule che producono EPO; iii) eseguire studi funzionali in vitro. Negli anni precedenti abbiamo sviluppato e ottimizzato il protocollo di differenziamento delle cellule staminali pluripotenti indotte (iPSCs) in cellule capaci di produrre EPO, confermato la capacità delle cellule differenziate di secernere EPO (misurando i livelli di tale secrezione in vitro in condizioni di ipossia e normossia) e stabilito che l'EPO prodotta dalle cellule differenziate era in grado di indurre il differenziamento di cellule staminali ematopoietiche (HSCs) in eritroblasti. Più recentemente abbiamo studiato la capacità delle cellule generate con il nostro protocollo di indurre eritropoiesi anche in vivo, indagandone pertanto la reale efficacia terapeutica. A tal fine, abbiamo incluso le iPSCs differenziate secondo il nostro protocollo in un tessuto bioartificiale umano (un dispositivo che mima la matrice extracellulare). Quest'ultimo è stato quindi trapiantato sottocute in topi NOD/SCID anemici (modello di anemia indotta tramite prelievi di sangue adattando un nostro precedente protocollo). I risultati di questo studio in vivo indicano che le neural crest cells derivate da iPSCs sopravvivono negli scaffold bioartificiali, rispondono fisiologicamente alle condizioni di anemia, accelerano il ripristino dei valori di ematocrito in vivo e inducono eritropoiesi nella milza (Brizi V et al, Stem Cell Res 2021; 55 : 102476).

Aver acquisito in Istituto la capacità di generare cellule staminali pluripotenti indotte e di modificare il loro genoma mediante la tecnica CRISPR/Cas9 ha permesso di sviluppare modelli di malattie renali in vitro su quali indagare l'origine della malattia e potenzialmente studiare l'effetto di nuove terapie. In questo contesto sono state generate cellule staminali pluripotenti indotte da un paziente affetto da sindrome nefrosica steroideo-resistente. La correzione di una mutazione trovata nel gene PAX2 che poteva correlare con l'insorgenza della malattia ha permesso di capire il ruolo di tale mutazione nell'alterare la funzionalità dei podociti, cellule specializzate responsabili della capacità del rene di eliminare nelle urine molecole tossiche e di trattenere nel sangue sostanze utili (Longaretti L et al., Biomedicine 2021; 9(12):1808). La tecnica CRISPR/Cas9 è stata inoltre utilizzata per modificare cellule staminali pluripotenti indotte al fine di renderle ipoimmunogeniche e quindi invisibili al sistema immunitario permettendo di utilizzare le stesse cellule per la cura di tutti i pazienti che necessitano di una terapia cellulare (Romano E et al., Stem Cell Research, 2021; 57:102580).

- **Studi preclinici sull'inibizione delle proteine del complemento nelle glomerulopatie.**

La glomerulopatia da C3 (C3G) è una malattia rara causata da un'anomala attivazione della via alternativa del complemento che comporta accumulo di depositi di C3 e danno a livello glomerulare. Ad oggi non sono ancora disponibili dei trattamenti specifici per questa malattia anche se stanno emergendo nuove terapie che inibiscono il complemento come potenziale strategia per il trattamento della C3G. In questo studio abbiamo valutato gli effetti dello "small interfering" RNA (siRNA) coniugato con N-acetilgalattosamina (GalNAc) nell'inibire in maniera specifica la produzione di C3 nel fegato in un modello di C3G in topi eterozigoti deficienti del fattore H (topi Cfh+/-). Abbiamo dimostrato che il trattamento con siRNA C3 inibiva l'espressione di C3 nel fegato dei topi Cfh+/- e limitava in fase fluida l'attivazione della via alternativa del complemento, riducendo la frammentazione del C3 circolante e l'attivazione del fattore B. Il trattamento con siRNA C3 riduceva i depositi di C3d glomerulare nei topi Cfh+/- a livelli simili a quelli dei topi di controllo. L'analisi ultrastrutturale al microscopio elettronico a trasmissione ha inoltre rivelato l'efficacia del siRNA C3 nel rallentare la formazione di depositi elettrondensi a livello mesangiale e subendoteliale. I risultati ottenuti indicano che il silenziamento di C3 con siRNA nel fegato può essere considerata una strategia terapeutica rilevante per il trattamento di pazienti con C3G associato all'aploinsufficienza di fattore H. I risultati di questo studio sono stati sottomessi per pubblicazione al Journal of Immunology nel 2021 (Zanchi C et al).

- **Studio NEPHSTROM.** La terapia cellulare con cellule mesenchimali stromali (MSC), che hanno proprietà immunomodulanti, anti-infiammatorie e riparative, rappresenta una potenziale strategia di trattamento innovativa per prevenire e riparare il danno renale della malattia diabetica. L'Istituto in collaborazione con i partner dei centri clinici di Bergamo, Galway (Irlanda), Birmingham e Belfast (UK) ha disegnato e coordinato il trial clinico NEPHSTROM (Novel Stromal Cell Therapy for Diabetic Kidney Disease), che è parte di un progetto Horizon 2020. L'obiettivo è di studiare in primo luogo la sicurezza, la fattibilità e la tollerabilità e, secondariamente, fornire dati preliminari sull'efficacia della terapia con MSC (purificate con tecnica innovativa dal midollo osseo di soggetti sani) in pazienti affetti da diabete di tipo 2 e nefropatia diabetica progressiva. NEPHSTROM è un trial randomizzato in doppio-cieco che prevede gruppi di pazienti trattati con singole dosi di MSC (80, 160, 240x106 cellule) a gruppi sequenziali, o con placebo, e seguiti per 18 mesi. All'inizio del 2021 è stato completato il follow-up (18 mesi) dei pazienti arruolati nella prima coorte (80x106 MSC/or placebo). Si è inoltre iniziato l'arruolamento e il follow-up della maggior parte dei pazienti della seconda coorte (160x106 MSC/or placebo).

- **Studio MSC-Tolerance.** La terapia cellulare in questi anni recenti è emersa come opzione terapeutica di interesse nel trapianto d'organo. Oltre alla loro potenzialità riparativa e anti-infiammatoria, le MSC esercitano un'importante azione immunomodulatoria che coinvolge le cellule T regolatorie, le cellule T-memoria, e le cellule dendritiche. Sulla base dei risultati incoraggianti nel modello sperimentale di trapianto di rene e di cuore, abbiamo disegnato e attivato per la prima volta un piccolo trial clinico con MSC autologhe in pazienti con trapianto di rene da donatore vivente. Si tratta di uno studio che ha come obiettivo iniziale la tollerabilità

e la sicurezza dell'infusione pre-trapianto di MSC isolate dal midollo osseo e la caratterizzazione degli eventuali meccanismi di immunomodulazione pro-tollerogenici attivati dalle cellule nel ricevente in presenza della terapia farmacologica di immunosoppressione convenzionale. Nei lavori ad oggi pubblicati si dimostra che la terapia con MSC è sicura e, in alcuni pazienti, promuove lo sviluppo di un ambiente pro-tollerogenico. Sebbene lo studio iniziale non sia disegnato per verificare l'efficacia della terapia cellulare nell'indurre tolleranza immunologica al trapianto, il corso clinico favorevole e l'ambiente pro-tollerogenico sviluppato in un paziente dall'infusione pre-trapianto di MSC ha permesso di ridurre e poi sospendere completamente la terapia farmacologica immunosoppressiva. Da tre anni il paziente non è più in terapia con farmaci antirigetto, e ha una funzione perfetta del rene trapiantato. Questo grazie al trattamento pre-trapianto con MSC isolate dal suo midollo osseo.

- **Studio Third-party MSC-Tx Tolerance.** Questo studio, disegnato dall'Istituto, coinvolge pazienti con trapianto di rene da donatore deceduto, la modalità più comune di trapianto di rene in Italia. Lo scopo generale dello studio è di testare la terapia cellulare con MSC allogeniche (terza parte) rispetto al ricevente e al donatore dell'organo come strategia per indurre tolleranza immunologica in pazienti che ricevono un trapianto di rene da un donatore deceduto. Le MSC vengono ottenute dal midollo osseo secondo protocolli stand

ATTIVITA' DI RICERCA NELL'AMBITO DELLA SALUTE PUBBLICA

a. Nell'ambito della farmacoepidemiologia le attività di ricerca negli ultimi tre anni hanno riguardato la prescrizione di farmaci antiepilettici alle donne in età fertile e in gravidanza, il monitoraggio della prescrizione degli psicofarmaci in età evolutiva e il monitoraggio dei percorsi terapeutici assistenziali dei bambini e adolescenti con disturbi del neurosviluppo, in particolare disturbi dello spettro autistico.

- Continua il progetto del **Registro Lombardo dell'ADHD**. A tutto il 2021 sono stati inseriti 6.530 nuovi pazienti in carico ai 18 Centri di Riferimento di cui 4.341 con diagnosi accertata, 1.940 a cui non è stato riscontrato l'ADHD e 249 ancora in corso di valutazione. Gli invianti principali ai Centri di Riferimento sono stati la scuola (30%) e la UONPIA (20%). Dei 4.341 pazienti a cui è stato diagnosticato l'ADHD sono risultati 4.241 (98%) pazienti con terapia assegnata, di cui 3.454 (81%) con solo terapia psicologica, 682 (16%) pazienti con trattamento combinato e 105 (2%) pazienti in solo trattamento farmacologico. Le comorbidità più frequentemente riscontrate sono state: i disturbi dell'apprendimento (39%), i disturbi del sonno (14%) e il disturbo oppositivo/provocatorio (14%).

- Seguire nel tempo, sin dalla nascita e almeno fino all'ingresso nella scuola dell'obbligo, la crescita e lo stato di salute di un gruppo (coorte) di bambini è la finalità dello **studio NASCITA (NAscere e creSCere in ITAlia)**. I pediatri di libera scelta, nel corso dei bilanci di salute e delle visite, raccolgono dati sui neonati e sui loro genitori allo scopo di descrivere, controllare e valutare nel tempo e nei diversi contesti di vita, lo sviluppo, la crescita, i percorsi educativi e di cura dei bambini, e quali fattori possono incidere sul loro benessere. L'analisi dei dati di

questo studio permetterà di individuare alcuni fattori “critici” che possono compromettere la salute e il benessere dei bambini. Grazie a questo studio sarà possibile, per esempio: valutare quale è la frequenza e la durata dell’allattamento al seno, con quali tempi e modalità avviene lo svezzamento e quali sono i fattori associati a una maggiore attitudine all’allattamento al seno; descrivere la crescita (statura, peso, indice di massa corporea) dei bambini italiani, stimare quale è la percentuale di bambini con sovrappeso o obesità e valutare i fattori di rischio di sovrappeso/obesità; valutare quanto sono conosciute e messe in atto alcune buone pratiche utili per lo sviluppo del bambino, come per esempio la lettura ad alta voce, l’ascolto della musica e qual è il loro impatto; stimare quanto sono frequenti alcune malattie nella popolazione pediatrica (per esempio bronchite asmatica, allergie, diabete, epilessia) e valutare quali sono i fattori che aumentano il rischio di sviluppare queste malattie; stimare quanti sono i bambini con bisogni speciali e quali sono le attenzioni e le risposte fornite nei differenti contesti geografici; valutare in che misura sono garantiti ai bambini e alle loro famiglie nei differenti contesti geografici i percorsi di socializzazione ed educativi. Sono 5.054 i bambini, nati tra il 1 aprile 2019 e il 31 luglio 2020, che partecipano con le loro famiglie allo studio NASCITA, assistiti da 139 pediatri di famiglia italiani. Per le dimensioni del campione, la rappresentatività a livello del territorio nazionale (area geografica e tipologia di contesto di residenza) e la partecipazione attiva dei pediatri di famiglia, si tratta di uno studio a tutt’oggi unico.

Al 31 dicembre 2021, per 3.981 neonati (79%) è stata effettuata la visita di controllo a 12 mesi e per 2.218 (44%) la visita a 24 mesi di età, di particolare importanza per la valutazione dello sviluppo cognitivo dei bambini e per un primo screening dei disturbi neuropsichiatrici con esordio precoce. In questa occasione sono raccolti anche alcuni dati sullo stress e la regolazione emotiva dei genitori.

- Nel corso del 2021 è iniziato un nuovo progetto di Ricerca Finalizzata finanziato dal Ministero della Salute dal titolo: **Transition care between adolescent and adult services for young people with chronic health needs in Italy**. Il Laboratorio per la Salute Materno Infantile del Dipartimento di Salute Pubblica ne è il coordinatore con due partner: Partner: ASST Santi Paolo e Carlo – Ospedale San Paolo, Milano e Azienda USL della Romagna. Questo studio ha lo scopo di supportare il passaggio di transizione dall’adolescenza all’età adulta, attraverso processi di cura integrati e coordinati, è una questione urgente per molti paesi a livello globale, dato il suo impatto sulla ricerca, sulla pratica clinica e sulla politica. Pertanto, determinare le strategie e le pratiche appropriate per ottimizzare i servizi per la transizione degli adolescenti e giovani adulti con condizioni di salute croniche sono una priorità per il sistema sanitario. Questo progetto condurrà studi qualitativi per definire l’esperienza e le richieste dei genitori e dei soggetti con epilessia, ADHD e diabete, che hanno raggiunto la maggiore età, oltre che le prospettive dei medici, riguardo il passaggio di transizione da tre relativi servizi di pediatria ai servizi per gli adulti in Italia. Tre normative/dichiarazioni formali di transizione, una per ciascuna delle condizioni selezionate, saranno definite di comune accordo, basate sui cambiamenti necessari identificati, con il contributo e il coinvolgimento di adolescenti, famiglie e professionisti. Lo studio sarà articolato in tre fasi, in base ai tre rispettivi obiettivi: 1. FASE 1

SURVEY RIVOLTA AI SERVIZI SANITARI; 2. FASE 2 STUDIO QUALITATIVO; 3. FASE 3 SVILUPPO DI UN MODELLO CONSENSUALE DI GESTIONE DELLA TRANSITION. Attualmente si sta concludendo la FASE 1.

- All'interno del gruppo collaborativo **GiViTI (Gruppo italiano per la Valutazione degli interventi in Terapia Intensiva)**, coordinato dal Laboratorio. Fulcro di queste attività è il Progetto Margherita è in corso un progetto pluriennale, una linea di ricerca orientata a valutare l'appropriatezza dell'assistenza fornita dalle Terapie Intensive (TI) italiane. Si tratta di un progetto di valutazione continua della qualità dell'assistenza, basato su un software di raccolta dati prodotto e sviluppato all'interno del Laboratorio e distribuito gratuitamente a tutte le TI iscritte. Il software è stato realizzato con una struttura modulare, che permette di integrare facilmente la raccolta dati di base (il "core" della Margherita) con raccolte dati relative a progetti di ricerca specifici (i "petali" della Margherita). Da gennaio 2011, il progetto Margherita è diventato internazionale, prendendo il nome di PROSAFE. Grazie ad un finanziamento della Unione Europea e a ulteriori contatti del laboratorio abbiamo infatti potuto sviluppare un nuovo software e allargare così il progetto a sei paesi: Cipro, Grecia, Israele, Italia, Slovenia, Ungheria.

I reparti di Terapia Intensiva sono ambiti assistenziali ad elevatissima tecnologia, dove è richiesta la presenza di molto personale, altamente qualificato. Questo fa sì che i costi di gestione di questi reparti siano elevati e che vi sia una conseguente attenzione all'utilizzo appropriato delle risorse. In questo ambito si colloca **lo studio StART** (Studio sull'Appropriatezza dei Ricoveri in Terapia intensiva), attivato nelle Toscana e Piemonte. In particolare, la valutazione dell'appropriatezza d'uso della TI si poggia sulla classificazione gerarchica dei livelli di assistenza sanitaria, basata sull'intensità e la sofisticazione delle prestazioni: 1) livello di cure intensive, 2) livello di cure sub-intensive, 3) livello di cure ordinarie. Allo stesso modo sono stati identificati i corrispondenti livelli di assistenza erogabile, in funzione sia della disponibilità di attrezzature che di personale. Idealmente, un letto attrezzato per poter erogare un dato livello assistenziale dovrebbe rispondere solo al livello corrispondente di complessità del problema e di bisogno assistenziale. Quando ciò si verifica, si può legittimamente parlare di uso del livello assistenziale appropriato. Sempre sul piano ideale, non ci dovrebbero essere sconfinamenti tra i livelli: un livello assistenziale più elevato non dovrebbe essere utilizzato per trattare un problema di entità inferiore così come un livello assistenziale medio o basso non dovrebbe essere utilizzato per trattare un problema di entità superiore. Qualora ciò si verificasse, si dovrebbe parlare di un utilizzo inappropriato della struttura. Una prestazione inappropriata è dunque quella che potrebbe essere erogata anche ad un livello assistenziale più basso (l'inappropriatezza in tal caso è riferibile ad uno spreco di risorse di alto livello), ma anche quella che dovrebbe essere erogata ad un livello assistenziale più alto (inappropriatezza riferibile alla non idoneità della struttura). Lo studio StART ha l'obiettivo di valutare questi fenomeni e individuarne le ragioni, con il fine di migliorare l'appropriatezza dei ricoveri in TI.

- E' attivo uno studio per la realizzazione di una **cartella clinica intelligente per la Terapia Intensiva**. L'obiettivo principale di quest'ambito di ricerca è il continuo sviluppo di un software "verticale" di cartella clinica distribuito ai reparti di Terapia Intensiva e che consente la valutazione delle performance dei reparti utilizzando indicatori di processo. Per raggiungere l'obiettivo, il progetto poggia su un gruppo di studio multidisciplinare con competenze mediche, infermieristiche, epidemiologiche, statistiche ed informatiche. Attualmente circa 40 reparti di Terapia Intensiva hanno adottato la cartella clinica elettronica denominata MargheritaTre. Ciò ha consentito di avviare la prima analisi di processo che ha come obiettivo il miglioramento della pratica di svezzamento dal ventilatore.

- **AbioKin** è uno studio osservazionale multicentrico prospettico con l'obiettivo di studiare la farmacocinetica di alcuni antibiotici fra i più utilizzati in Terapia Intensiva. Lo studio è realizzato nei centri che adottano la cartella clinica elettronica MargheritaTre. La prima fase del progetto consiste nella raccolta di campioni di plasma in pazienti critici sottoposti a terapia antibiotica, con almeno una delle molecole considerate. Nella seconda fase, si svilupperanno modelli di farmacocinetica che permettano di descrivere l'evoluzione delle concentrazioni plasmatiche (dosate nei campioni raccolti) in funzione delle condizioni cliniche dei pazienti (ricavate da MargheritaTre). La terza fase prevede, la realizzazione di un simulatore da inserire in MargheritaTre, che permetta il calcolo e la previsione delle concentrazioni plasmatiche di antibiotico in funzione delle condizioni dei pazienti, in modo da supportare i clinici nella scelta di terapie personalizzate che raggiungano i target terapeutici ottimali.

- Valutazione continua dei **percorsi riabilitativi nelle cerebrolesioni acute acquisite**: il progetto vuole provare a valutare in modo scientificamente rigoroso la portata delle diverse strategie e dei diversi percorsi di cura riabilitativa per i pazienti colpiti da gravi cerebrolesioni acquisite e migliorarne quindi la qualità dell'assistenza.

- **Registro traumi**: Lo scopo di questo studio è quello di costituire un registro traumi in grado di fornire dati e indicatori utili a descrivere, monitorare e migliorare il sistema integrato di assistenza al trauma, nonché la qualità delle cure assicurate al paziente con trauma moderato-grave ricoverato in terapia intensiva. In particolare, attraverso l'integrazione di diversi database, lo studio si propone di mettere a disposizione dei centri partecipanti e del sistema traumi nel suo complesso strumenti rigorosi di valutazione e autovalutazione.

- **Valutazione della qualità dell'assistenza in Pronto Soccorso**: L'obiettivo generale dello studio è l'identificazione e lo studio dei diversi fattori, clinici e di contesto, che influenzano l'appropriatezza della decisione di ricoverare o dimettere i pazienti che si sono presentati in Pronto Soccorso. L'analisi dovrà consentire l'individuazione e la promozione di interventi migliorativi.

- **La qualità della cura nelle unità di terapia semintensiva**: gli obiettivi principali sono due: 1) Realizzare un sistema di valutazione continua della qualità dell'assistenza nelle Terapie Semintensive, orientato al miglioramento delle cure 2) Promuovere l'attività di ricerca clinica in questi reparti

- Contenimento della diffusione regionale dell'infezione da **Klebsiella pneumoniae** resistente a carbapenemi in 7 ospedali lombardi: caratterizzazione molecolare, epidemiologia e esiti

clinici (RF-2011-02351728). L'obiettivo del progetto è stato quello di monitorare l'evoluzione dell'outbreak da *Klebsiella pneumoniae* carbapenemasi produttrice (KPC-kp) in Lombardia. A tale scopo, il progetto si è focalizzato sugli aspetti di seguito riportati: -valutazione dell'incidenza della diffusione di KPC-kp nei centri partecipanti al progetto (mediante la creazione di un network che includesse le principali realtà ospedaliere lombarde); - descrizione delle caratteristiche cliniche di tutti i pazienti con infezione o colonizzazione da KPC-kp afferenti alle strutture considerate per il periodo di studio e potenziali associazioni con l'outcome clinico; -descrizione delle caratteristiche microbiologiche dei ceppi di KPC-kp sia fenotipica che genotipica mediante la tecnica Whole Genome Sequencing.

- **Ricerca IN-ACTO** indagine su conoscenze, attitudine ed esperienza verso gli studi clinici randomizzati in donne con una diagnosi di tumore ovarico. Lo scopo principale dello studio è quello di indagare quanto è familiare alle donne, con una diagnosi di tumore ovarico, il tema della ricerca clinica, in particolare gli studi clinici randomizzati e controllati o come hanno vissuto la proposta di partecipare in prima persona a uno studio clinico. Attraverso i risultati sarà possibile mettere in luce gli eventuali aspetti sui quali puntare per un maggior coinvolgimento oltre che nuove modalità di comunicazione tra medico e paziente. L'indagine sarà condotta attraverso due questionari messi a punto ad hoc partendo dalla letteratura disponibile e sottoposti a un processo di validazione che ha previsto il coinvolgimento delle pazienti ACTO.

- **Registro Italiano Sclerosi Multipla:** l'obiettivo principale del progetto, cui partecipano attivamente al momento 104 centri, è quello di creare una struttura organizzata multicentrica per raccogliere i dati di tutti i pazienti affetti da sclerosi multipla italiani con finalità epidemiologiche, di sanità pubblica e di ricerca volta a migliorare le conoscenze sulle cause e sui trattamenti della malattia. La nuova modalità di raccolta dati via web permetterà una raccolta dati più finalizzata alle prospettive del progetto, quali la partecipazione a pool di dati in collaborazione con EMA, analisi con dati amministrativi regionali, nonché coinvolgimento in progetti ad hoc.

- **PartecipaSalute:** costruire un'alleanza strategica tra associazioni di pazienti, cittadini e comunità medico scientifica. Progetto nato nel 2003 con lo scopo di orientare le associazioni di pazienti e i cittadini ad una maggiore partecipazione sui temi dell'assistenza sanitaria e delle scelte in medicina. Il progetto, e soprattutto il gruppo di lavoro che è nato intorno al progetto, rimangono un importante punto di riferimento per attività di coinvolgimento dei cittadini nel dibattito sulla salute.

Dal 1995 la Fondazione Nerina e Mario Mattioli Onlus, in stretta collaborazione con il Dipartimento di Oncologia dell'Istituto Mario Negri IRCCS, ha contribuito a sviluppare e catalizzare la collaborazione inter-disciplinare e favorire il rapido trasferimento di conoscenze tra laboratorio e clinica, nella speranza di ottenere benefici per tutte le pazienti affette da tumori dell'apparato genitale femminile, in particolare il tumore dell'ovaio. I tumori dell'ovaio rappresentano il sesto tipo di cancro più comune nelle donne europee, nonché la prima causa di morte per tumore nella sfera genitale femminile.

ATTIVITA' IN AMBITO COVID

a. Studio sul **Covid-19 e manifestazioni neurologiche** si propone di indagare se l'infezione da Sars-CoV- 2 induca in alcuni pazienti un danno cerebrale e quale sia la sua evoluzione. Lo studio permetterà di definire se livelli particolarmente elevati di queste proteine siano presenti nel sangue dei pazienti COVID-19 e siano associati alla mortalità e/o alla gravità della malattia. In futuro, la misurazione di queste proteine potrà permettere una tempestiva e più accurata stratificazione della gravità dei pazienti, indirizzando il paziente verso il percorso terapeutico migliore.

b. Il Dipartimento di salute pubblica ha svolto diverse indagini sull'impatto della pandemia sulla popolazione dal titolo: "**A casa per il COVID**".

- Dal 6 al 20 aprile è stata condotta un'indagine nazionale volta a rilevare il **distress psicologico degli italiani**, costretti al lockdown nella prima fase dell'emergenza coronavirus. (preprint Bonati M, 2020 e Bonati M, Campi R, Zanetti M, Cartabia M, Scarpellini F, Clavenna A, Segre G. Psychological distress among Italians during the 2019 coronavirus disease (COVID-19) quarantine BMC Psychiatry 2021)

- Nella settimana 8-15 maggio 2020, il Laboratorio per la Salute Materno Infantile ha promosso un'indagine nazionale sull'impatto della **didattica online** imposta dalla pandemia, rivolgendosi alle mamme di ragazzi che frequentano la scuola primaria e secondaria di primo grado. Complessivamente hanno partecipato 2149 mamme. (Scarpellini F, Segre G, Cartabia M, Zanetti M, Campi R, Clavenna A, Bonati M. Distance learning in Italian primary and middle school children during the COVID-19 pandemic: a national survey. BMC Public Health. 2021 Jun 2;21(1):1035).

- Come parte dello studio, una particolare attenzione è stata posta anche agli **studenti disattenti e iperattivi assistiti dal Centro Regionale ADHD dell'Ospedale Santi Paolo e Carlo di Milano**: alunni che già nell'abituale corso scolastico manifestano difficoltà ad adeguarsi ai ritmi scolastici. I risultati sono molto importanti per aprire una riflessione sui cambiamenti indotti dalla pandemia e sulle modalità più favorevoli alla riorganizzazione della scuola e della famiglia, affinché entrambe continuino ad essere un punto di riferimento per i ragazzi. (Tessarollo V, Scarpellini F, Costantino I, Cartabia M, Canevini MP, Bonati M. Distance Learning in Children with and without ADHD: A Case-control Study during the COVID-19 Pandemic. J Atten Disord. 2022 Apr;26(6):902-914).

- Tra maggio e giugno 2020, il progetto "**Ragazzi in quarantena**" ha coinvolto 82 bambini e ragazzi di età compresa tra i 6 e 14 anni, residenti a Milano (città e hinterland), al fine di indagare tramite video-interviste il loro benessere psicologico e i cambiamenti nella routine durante il lockdown. Complessivamente circa 1/3 del campione ha avuto problemi di sonno e ha desiderato dormire nel lettone con i genitori. La più grande paura, condivisa dai 3/4 dei ragazzi è stata il timore che i propri cari potessero ammalarsi di COVID-19. Alla valutazione dei sintomi d'ansia, 18 soggetti (22%) hanno riportato punteggi normali, 54 (65%) punteggi lievi-moderati, mentre 10 (12%) punteggi particolarmente elevati, senza differenze significative tra maschi e femmine e tra studenti della scuola primaria di primo e secondo grado. I ragazzi che hanno dichiarato di aver trascorso più di due ore al giorno davanti agli schermi (escludendo le

ore per la DaD e per i compiti) hanno mostrato livelli d'ansia significativamente maggiori rispetto a quelli che li avevano utilizzati per meno di due ore al giorno. Circa metà dei partecipanti ha riportato frequenti sbalzi d'umore, associati principalmente ad un maggior tempo davanti agli schermi e a un cambiamento della routine alimentare (sia per la quantità che la qualità). Quasi la totalità del campione (90%) ha riportato di aver sofferto molto la mancanza degli amici e dei compagni, infatti alla domanda "Qual è la prima cosa che vorresti fare una volta tornati alla normalità?" oltre la metà dei ragazzi ha espresso il desiderio di poter rivedere i propri amici e compagni. (Segre G, Campi R, Scarpellini F, Clavenna A, Zanetti M, Cartabia M, Bonati M. Interviewing children: the impact of the COVID-19 quarantine on children's perceived psychological distress and changes in routine. BMC Pediatr. 2021 May 13;21(1):231).

- È stato creato e diffuso attraverso i canali social e nei centri servizi dello SPI un questionario che ha coinvolto 1480 persone, nel 70% dei casi di **età compresa tra 65 e 74 anni, tutte residenti in Lombardia**. Lo studio ha posto ancora una volta all'attenzione alcuni dei possibili elementi e delle risorse disponibili per un nuovo welfare fatto anche con pensionati attivi. L'indagine ha dimostrato che la categoria degli over 70 rappresenta sicuramente una categoria da salvaguardare. Nonostante, però, i problemi di salute legati all'età e il fatto che la pandemia da Covid-19 li preoccupi parecchio, è importante continuare a coinvolgerli nella vita di tutti i giorni con tutte le precauzioni del caso: il fatto di sentirsi ancora attivi non potrà che aiutarli. Bisogna quindi cercare di evitare una loro "reclusione" forzata, durante un nuovo lockdown. Gli anziani sono dunque una risorsa fondamentale anche durante questo particolare periodo storico.

- E' stato avviato uno **Studio Multicentrico su Pazienti COVID in Terapia Intensiva** con l'obiettivo di stratificare il rischio e lo sviluppo di modelli prognostici in pazienti COVID in Terapia Intensiva su outcome clinici e valutare l'efficacia dei trattamenti.

- Nell'ambito di lavori tesi di laurea in Medicina è stata effettuata un'analisi dell'impatto della pandemia COVID-19 sugli **accessi pediatrici nei Pronto Soccorso** di due ospedali lombardi, evidenziando un aumento degli accessi per disturbi psichiatrici, in particolare tra le ragazze adolescenti. (Clavenna A, et al Trend of Emergency Department Accesses for Mental Disorders by Adolescents During the Pandemic Period. Pediatr Emerg Care. 2022;38(4):e1233-e1235.)

- Nel periodo 11-28 gennaio 2021 è stata effettuata un'indagine che ha coinvolto 136 infermieri e medici dell'Ospedale Fiera Milano (contesto peculiare trattandosi di una terapia intensiva creata ad hoc per l'emergenza COVID-19 con personale proveniente da differenti ospedali milanesi), con lo scopo di valutare l'impatto psicologico della pandemia sui professionisti in prima linea nel corso della seconda ondata. Lo studio ha indagato diverse aree: burnout, capacità di resilienza, sintomi di ansia e depressione, disturbi del sonno e ha confermato l'impatto negativo della pandemia sul benessere psicologico del personale sanitario delle cure intensive. (Stocchetti N, Segre G, Zanier ER, Zanetti M, Campi R, Scarpellini F, Clavenna A, Bonati M. Burnout in Intensive Care Unit Workers during the Second Wave of the COVID-19 Pandemic: A Single Center Cross-Sectional Italian Study. Int J Environ Res Public Health. 2021 Jun 5;18(11):6102.)

c. Dipartimento di Biochimica e Farmacologia Molecolare - La rapida diffusione della pandemia causata dal virus SARS-CoV-2 ha creato una situazione del tutto insolita nella definizione delle strategie per sviluppare vaccini o farmaci antivirali in senso lato. La pandemia ha sorpreso tutti per la velocità della sua diffusione e, soprattutto, per l'assenza di strategie di difesa integrate nazionali e internazionali. Lo sviluppo dei farmaci richiede solitamente un tempo molto lungo tra il concepimento e la disponibilità per il paziente. Tuttavia, nel caso del COVID-19, il fattore tempo è decisivo. In questo contesto, il Dipartimento di Biochimica e Farmacologia Molecolare si è attivato fin dall'inizio della pandemia per mettere le proprie competenze biochimiche, biofisiche e computazionali al servizio di questa ricerca di carattere prioritario. L'internalizzazione del virus SARS-CoV-2 nella cellula ospite inizia con il legame della proteina virale spike (S) ad una proteina di membrana chiamata enzima di conversione dell'angiotensina 2 (ACE2). Una volta legata alla superficie cellulare dell'ospite, il dominio S1 e S2 della proteina S vengono scissi dalla serina proteasi 2 transmembrana. Il dominio S1 contiene il dominio di legame al recettore (Receptor Binding Domain, RBD), responsabile del legame ad ACE2. Dopo la scissione della proteina S, il virus viene internalizzato dalla cellula ospite mediante fusione della membrana virale e cellulare. Una delle strategie per ridurre l'infezione da SARS-CoV-2 si basa sullo sviluppo di composti capaci di interferire con il legame tra la proteina S e l'ACE2. Lo scopo principale del nostro progetto di ricerca condotto è quello di sviluppare molecole peptidiche in grado di mascherare il sito di legame tra le due proteine e quindi di impedire la formazione del complesso e di conseguenza l'infezione. Per poter effettuare questi studi abbiamo sviluppato una piattaforma tecnologica che, oltre a consentire lo screening delle librerie di peptidi e lo studio approfondito dei peptidi più promettenti, permette di valutare altre molecole capaci di interagire con il legame S-ACE2.

f. Nell'ambito dell'emergenza COVID-19 il Dipartimento di medicina cardiovascolare ha partecipato attivamente al coordinamento dello **studio COVER** (COVid iVERmectin), sponsorizzato dal IRCCS Sacro Cuore Don Calabria di Negrar. Sulla base di recenti dati di letteratura che dimostravano che l'ivermectina avesse un'attività antivirale contro SARS-CoV-2 in vitro, lo studio si proponeva di definire se l'ivermectina, somministrata a dosi più elevate rispetto a quelle abituali, è sicura nei pazienti con infezione SARS-CoV-2 allo stadio iniziale, ed è efficace nella riduzione della carica virale. Lo studio si è concluso a luglio 2021 ed ha dimostrato che l'ivermectina risulta essere sicura anche somministrata ad alte dosi, anche se non facilmente tollerabile a causa degli effetti collaterali, ma risulta inefficace nella riduzione della carica virale.

È stato Promotore dello **studio TIC** (Terapie croniche e Infezione da SARS-CoV-2: instant survey nella medicina generale italiana), svolto in collaborazione con i Medici di Medicina Generale del territorio italiano. Lo studio si proponeva di valutare retrospettivamente l'associazione tra l'uso di ACE Inibitori/sartani e la severità della malattia da COVID-19 nei pazienti con sintomatologia altamente suggestiva di infezione da SARS-CoV-2. Lo studio si è concluso a luglio 2020 e ha dimostrato l'assenza di un'associazione con la prognosi di una terapia cronica con ACE inibitori/ sartani in linea con i risultati di numerosi altri studi che negano un effetto prognostico negativo di queste terapie in caso di infezione da SARS-CoV-2.

g. Analisi del database COVID di Regione Lombardia sull'associazione tra diverse classi di antidiabetici e il rischio di ospedalizzazioni e mortalità nei pazienti diabetici affetti da COVID-19.

h. Il dipartimento di medicina renale ha avviato:

- studio pilota per esplorare l'efficacia e la sicurezza di RESCUE THERAPY con Anticorpi da pazienti convalescenti ottenuti con Plasmaferesi a Doppia Filtrazione (DFPP) e infusi in pazienti gravemente malati, ventilati con Coronavirus 2019 (COVID-19). Curtò D, Tomatis F, Gastoldi S, Galbusera M, Noris M, Raimondi F, Lorini L, Falanga A, Marchetti M, Remuzzi G, Ruggenenti P Case report: Effects of anti-SARS-CoV-2 convalescent antibodies obtained with double filtration plasmapheresis Front Immunol 2021)

- studio sull'impiego di Eculizumab in uso compassionevole per fermare il complemento mediato in pazienti infetti da Covid-19 con danni polmonari. Eculizumab è un anticorpo monoclonale anti-C5 approvato per il trattamento dell'emoglobinuria notturna parossistica e della sindrome uremica emolitica atipica. In queste condizioni cliniche Eculizumab è estremamente efficace, ben tollerato e sicuro. Questo farmaco potrebbe quindi essere utile e addirittura salvavita nei pazienti con polmonite indotta da SARS-Cov-2 (COVID-19). Con questo sfondo FDA ha approvato un programma di off-label di uso compassionevole dell'anticorpo monoclonale anti C5 eculizumab per il trattamento di pazienti non vaccinati con COVID-19 (Ruggenenti P, Di Marco F, Cortinovis M, Lorini L, Sala S, Novelli L, Raimondi F, Gastoldi S, Galbusera M, Donadelli R, Mele C, Piras Rossella, Noris M, Portalupi V, Cappelletti L, Carrara C, Tomatis F, Bernardi S, Perna A, Peracchi T, Diadei O, Benigni A, Remuzzi G Eculizumab in patients with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) requiring continuous positive airway pressure ventilator support: retrospective cohort study PLoS One 2021)

i. Sviluppo di un programma interattivo disponibile on line sul sito del Mario Negri per la visualizzazione e il confronto dei dati regionali di diffusione del Covid-19.

l. Avvio di un **registro** presso la Regione Lombardia per la valutazione delle caratteristiche epidemiologiche e cliniche dei pazienti ricoverati presso le unità COVID-19. Lo studio multicentrico si propone di raccogliere informazioni epidemiologiche e cliniche sui pazienti ricoverati in unità COVID-19, cioè pazienti che al momento del ricovero non richiedono un ricovero in terapia intensiva, analizzare gli interventi e le terapie, farmacologiche e non, messe in atto e valutarne gli outcome fino a 12 mesi dalla dimissione dall'unità COVID-19.

m. Studio multicentrico (Milano, Bergamo, Brescia, Lodi, Crema, Cremona, Varese) che si propone di sviluppare un nuovo sistema di sorveglianza ed allerta precoce per SARS-CoV-2 mediante **analisi dei reflui urbani**. Lo studio prevede la messa a punto di un metodo per rilevare SARS-CoV-2 nei reflui urbani e creazione di una rete di sorveglianza nella popolazione lombarda.

n. Presso il dipartimento di malattie rare è stato avviato:

- lo **studio Origin** per analizzare l'associazione tra varianti rare e comuni nei geni del complemento, e la gravità della malattia e la risposta a nuove terapie in pazienti covid-19. Lo studio vuole identificare i fattori genetici che predispongono allo sviluppo di forme gravi di polmonite in seguito ad infezione da coronavirus in modo da poter individuare le persone a maggiore rischio.

- lo studio di un protocollo per il trattamento domiciliare precoce in pazienti con malattia da coronavirus con l'obiettivo di accelerare il recupero e prevenire il ricovero in ospedale (Suter F, Consolaro E, Pedroni S, Moroni C, Pastò A, Paganini M, Pravettoni G, Cantarelli U, Rubis N, Perico N, Perna A, Peracchi T, Ruggenenti P, Remuzzi G A simple, home-therapy algorithm to prevent hospitalisation for COVID-19 patients: A retrospective observational matched-cohort study - EClinicalMedicine 2021)

p. Il Laboratorio di Medical Imaging si è occupato dello studio degli effetti della patologia COVID-19 a livello toracico e cerebrale, a breve e lungo termine. È stata messa a punto una tecnica per la quantificazione della compromissione polmonare su immagini TAC toraciche, che consente di valutare in modo oggettivo il danno polmonare e la relativa evoluzione nel tempo nei pazienti sopravvissuti alla patologia COVID-19. In ambito cerebrale, il Laboratorio è stato coinvolto nell'elaborazione di diversi tipi di immagini a risonanza magnetica (sequenze anatomiche, DWI, DTI e SWI), con l'obiettivo di valutare i danni cerebrali conseguenti all'infezione e studiarne l'evoluzione nel tempo.

SELEZIONE PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE 2021

Lundy L, Kassinos D F, Slobodnik J, Karaolia P, Cirka L, Kreuzinger N, Castiglioni S, Bijlsma L, Dulio V, Deviller G, Lai F Y, Alygizakis N A, Barneo M, Baz-Lomba J A, Been F, Cichova M, Conde K, Covaci A, Donner E, Ficek A, Hassard F, Hedstrom A, Hernandez F, Janska V, Jellison K, Hofman J, Hill K, Hong P, Kasprzyk-Hordern B, et al Making Waves:

Collaboration in the time of SARS-CoV-2 - rapid development of an international co-operation and wastewater surveillance database to support public health decision-making Water

Res 2021; 199: 117167

Selvestrel G, Robino F, Baderna D, Manganelli S, Asturiol D, Manganaro A, Zanotti Russo M, Lavado G, Toma C, Roncaglioni A, Benfenati E. Sphera

Cosmolife: a new tool for the risk assessment of cosmetic products.

ALTEX - Alternatives to animal experimentation, 2021, 38(4), 565-579.

GBD 2019 Under-5 Mortality Collaborators, Beghi E, Giussani G, Pupillo E, Gallus S, Lugo A, Remuzzi G, Perico N, Bikbov B.

Global, regional, and national progress towards Sustainable Development Goal 3.2 for neonatal and child health: all-cause and cause-specific mortality findings from the Global Burden of Disease Study 2019.

Lancet 2021; 398: 870-905

Davoli E, Zucchetti M, Matteo C, Ubezio P, D'Incalci M, Morosi L.

The space dimension at the micro level: mass spectrometry imaging of drugs in tissues. Mass Spectrom

Rev 2021; 40: 201-214

De Simone G, Balducci C, Forloni G, Pastorelli R, Brunelli L.

Hippuric acid: Could become a barometer for frailty and geriatric syndromes? Ageing Res

Rev 2021; 72: 101466

Bigini P, Gobbi M, Bonati M, Clavenna A, Zucchetti M, Garattini S, Pasut G

The role and impact of polyethylene glycol on anaphylactic reactions to COVID-19 nano-vaccines

Nat Nanotechnol 2021; 16: 1169-1171

IF: 39.213 -- Published

Talamini L, Picchetti P, Ferreira L M, Sitia G, Russo L, Violatto M B, Travaglini L, Fernandez Alarcon J, Righelli L, Bigini P, De Cola L

Organosilica cages target hepatic sinusoidal endothelial cells avoiding macrophage filtering

ACS Nano 2021; 15: 9701-9716

IF: 15.881 -- Published

Filipe A, Chernorudskiy A, Arbogast S, Varone E, Villar-Quiles R N, Pozzer D, Moulin M, Fumagalli S, Cabet E, Dudhal Swati C E, De Simoni M G, Denis R G, Vadrot N, Dill C, Giovarelli M, Szweda L, De Palma C, Pinton P, Giorgi C, Viscomi C, Clementi E, Missiroli S, Boncompagni S, Zito E, Ferreiro A

Defective endoplasmic reticulum-mitochondria contacts and bioenergetics in SEPN1-related myopathy

Cell Death Differ 2021; 28: 123-138

IF: 15.828 -- Published

Cantoni O, Zito E, Fiorani M, Guidarelli A

Arsenite impinges on endoplasmic reticulum-mitochondria crosstalk to elicit mitochondrial ROS formation and downstream toxicity

Semin Cancer Biol 2021; 76: 132-138

IF: 15.707 -- Published

Grimm L M, Sinn S, Krstic M, D'Este E, Sonntag I, Prasetyanto E A, Kuner T, Wenzel W, De Cola L, Biedermann F

Fluorescent nanozeolite receptors for the highly selective and sensitive detection of neurotransmitters in water and biofluids

Adv Mater 2021; 33: 2104614

IF: 30.849 - Pubblicato

Ruggenenti P, Cortinovis M, Parvanova A, Trillini M, Iliev I, Bossi A, Belviso A, Aparicio M C, Trevisan R, Rota S, Perna A, Peracchi T, Rubis N, Martinetti D, Prandini S, Gaspari F, Carrara F, De Cosmo S, Tonolo G, Mangili R, Remuzzi G, VARIETY Study Organization

Preventing microalbuminuria with benazepril, valsartan, and benazepril-valsartan combination therapy in diabetic patients with high-normal albuminuria: A prospective, randomized, open-label, blinded endpoint (PROBE) study

PLoS Med 2021; 18: e1003691

IF: 11.069

Perico L, Morigi M, Pezzotta A, Corna D, Brizi V, Conti S, Zanchi C, Sangalli F, Trionfini P, Buttò S, Xinaris C, Tomasoni S, Zoja C, Remuzzi G, Benigni A, Imberti B

Post-translational modifications by SIRT3 de-2- hydroxyisobutyrylase activity regulate glycolysis and enable nephrogenesis

Sci Rep 2021; 11: 23580

IF: 4.38

Ruggenenti P, Podestà M A, Trillini M, Perna A, Peracchi T, Rubis N, Villa D, Martinetti D, Cortinovis M, Ondeì P, Condemi C G, Guastoni C M, Meterangelis A, Granata A, Mambelli E, Pasquali S, Genovesi S, Pieruzzi F, Bertoli S, Del Rosso G, Garozzo M, Rigotti A, Pozzi C, David S, Daidone G, Mingardi G, Mosconi G, et al, Remuzzi G, ARCADIA Study Organization

Ramipril and cardiovascular outcomes in patients on maintenance hemodialysis: the ARCADIA multicenter randomized controlled trial

Clin J Am Soc Nephrol 2021; 16: 575-587

IF: 8.237

Cerullo D, Rottoli D, Corna D, Rizzo P, Abbate M, Macconi D, Benigni A, Remuzzi G, Zoja C

Characterization of a rat model of myeloperoxidase- anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated crescentic glomerulonephritis

Nephron 2021; 145: 428-444

IF: 2.847

Longaretti L, Trionfini P, Brizi V, Xinaris C, Mele C, Breno M, Romano Elena, Giampietro R, Remuzzi G, Benigni A, Tomasoni S

Unravelling the role of PAX2 mutation in human focal segmental glomerulosclerosis

Biomedicines 2021; 9: 1808

IF: 6.081

Consonni FM, Bleve A, Totaro MG, Storto M, Kunderfranco P, Termanini A, Pasqualini F, Alì C, Pandolfo C, Sgambelluri F, Grazia G, Santinami M, Maurichi A, Milione M, Erreni M, Doni A, Fabbri M, Gribaldo L, Rulli E, Soares MP, Torri V, Mortarini R, Anichini A, Sica A.

Heme catabolism by tumor-associated macrophages controls metastasis formation.

Nat Immunol. 2021 May;22(5):595-606.

Colombo M, Ndembe G, Broggin M. KRAS

Targeting and Resistance: Anticipating the Expectable.

J Thorac Oncol. 2021 Aug;16(8):1239-1241.

Bizzaro F, Fuso Nerini I, Taylor MA, Anastasia A, Russo M, Damia G, Guffanti F, Guana F, Ostano P, Minoli L, Hattersley MM, Arnold S, Ramos-Montoya A, Williamson SC, Galbiati A, Urošević J, Leo E, Cavallaro U, Ghilardi C, Barry ST, Bani MR, Giavazzi R.

VEGF pathway inhibition potentiates PARP inhibitor efficacy in ovarian cancer independent of BRCA status.

J Hematol Oncol. 2021 Nov 6;14(1):186.

Pinessi D, Resovi A, Sangalli F, Morosi L, Zentilin L, Borsotti P, Carlessi E, Passoni A, Davoli E, Belotti D, Giavazzi R, Giacca M, Valbusa G, Berndt A, Zucchetti M, Taraboletti G.

Tumor vascular remodeling by thrombospondin-1 enhances drug delivery and antineoplastic activity.

Matrix Biol. 2021 Sep;103-104:22-36.

Ricci F, Corbelli A, Affatato R, Chilà R, Chiappa M, Brunelli L, Fruscio R, Pastorelli R, Fiordaliso F, Damia G.

Mitochondrial structural alterations in ovarian cancer patient-derived xenografts resistant to cisplatin.

Am J Cancer Res. 2021 May 15;11(5):2303-2311.

Bonati M, Campi R, Zanetti M, Cartabia M, Scarpellini F, Clavenna A, Segre G.

Psychological distress among Italians during the 2019 coronavirus disease (COVID-19) quarantine

BMC Psychiatry 2021;21(1):20 IF: 3.63 (Pubblicato)

Garbero E, Livigni S, Ferrari F, Finazzi S, Langer M, Malacarne P, Meca MCC, Mosca S, Olivieri C, Pozzato M, Rossi C, Tavola M, Terzitta M, Viaggi B, Bertolini G.

High dose coupled plasma filtration and adsorption in septic shock patients. Results of the COMPACT-2: a multicentre, adaptive, randomised clinical trial

Intensive Care Med 2021; 47(11):1303-1311 IF: 17.44 (Pubblicato)

Lepore V, Bosetti C, Santucci C, Iaffaldano P, Trojano M, Mosconi P, on behalf of the Italian Multiple Register Centers Group, and the Scientific Committee of Italian SM Register

Detection of disability worsening in relapsing-remitting multiple sclerosis patients. A real-world roving EDSS-Expanded Disability Status Scale reference analysis from the Italian Multiple Sclerosis Register

Eur J Neurol 2021;28(2):567-578 IF: 6.089 (Pubblicato)

Varghese NE, Santoro E, Lugo A, Madrid-Valero JJ, Ghislandi S, Torbica A, Gallus S.

The Role of Technology and Social Media Use in Sleep-Onset Difficulties Among Italian Adolescents: Cross-sectional Study

J Med Internet Res 2021;23(1): e20319 IF: 5.428 (Pubblicato)

Zanetti M, Clavenna A, Pandolfini C, Pansieri C, Miglio D, Calati MG, Cartabia M, Bonati M.

Informatics Methodology Used in the Web-Based Portal of the NASCITA Cohort Study: Development and Implementation Study

J Med Internet Res 2021;23(3): e23087 IF: 5.428 (Pubblicato)

Meessen JMTA, Bär C, di Dona FM, Staszewsky LI, Di Giulio P, Di Tano G, Costa A, Leonardy J, Novelli D, Nicolis EB, Masson S, Pinet F, Thum T, Latini R.

LIPCAR Is Increased in Chronic Symptomatic HF Patients. A Sub-Study of the GISSI-HF Trial.

Clin Chem. 2021 Nov 26;67(12):1721-1731. doi: 10.1093/clinchem/hvab197. PMID: 34751777.

Conte E, Andreini D, Magnoni M, Masson S, Mushtaq S, Berti S, Canestrari M, Casolo G, Gabrielli D, Latini R, Marraccini P, Moccetti T, Modena MG, Pontone G, Gorini M, Maggioni AP, Maseri A;

CAPIRE Investigators, Steering Committee; Imaging Core Laboratory; Centralized biobank and biomarker core laboratory; Central ECG Reading; Psychologists CRF Group; Participating Centers and Investigators. Association of high-risk coronary atherosclerosis at CCTA with clinical and circulating biomarkers: Insight from CAPIRE study.

J Cardiovasc Comput Tomogr. 2021 Jan-Feb;15(1):73-80. doi: 10.1016/j.jcct.2020.03.005. Epub 2020 Jun 11. PMID: 32563713.

Ruggeri L, Nespoli F, Ristagno G, Fumagalli F, Boccardo A, Olivari D, Affatato R, Novelli D, De Giorgio D, Romanelli P, Minoli L, Cucino A, Babini G, Staszewsky L, Zani D, Pravettoni D, Belloli A, Scanziani E, Latini R, Magliocca A.

Esmolol during cardiopulmonary resuscitation reduces neurological injury in a porcine model of cardiac arrest.

Sci Rep. 2021 May 20;11(1):10635. doi: 10.1038/s41598-021-90202-w. PMID: 34017043; PMCID: PMC8138021.

Lucchetti J, Fumagalli F, Olivari D, Affatato R, Fracasso C, De Giorgio D, Perego C, Motta F, Passoni A, Staszewsky L, Novelli D, Magliocca A, Garattini S, Latini R, Ristagno G, Gobbi M. Brain Kynurenine

Pathway and Functional Outcome of Rats Resuscitated From Cardiac Arrest.

J Am Heart Assoc. 2021 Dec 7;10(23):e021071. doi: 10.1161/JAHA.121.021071. Epub 2021 Nov 24. PMID: 34816736; PMCID: PMC9075408.

Baviera M, Genovese S, Lepore V, Colacioppo P, Robusto F, Tettamanti M, D'Ettorre A, Avanzini F, Fortino I, Nicolucci A, Roncaglioni MC, Giorgino F.

Lower risk of death and cardiovascular events in patients with diabetes initiating glucagon-like peptide-1 receptor agonists or sodium-glucose cotransporter-2 inhibitors: A real-world study in two Italian cohorts.

Diabetes Obes Metab. 2021 Jul;23(7):1484-1495. doi: 10.1111/dom.14361. Epub 2021 Mar 15. PMID: 33606897.

Magliano DJ, Chen L, Islam RM, Carstensen B, Gregg EW, Pavkov ME, Andes LJ, Balicer R, Baviera M, Boersma-van Dam E, Booth GL, Chan JCN, Chua YX, Fosse-Edorh S, Fuentes S, Gulseth HL, Gurevicius R, Ha KH, Hird TR, Jermendy G, Khalangot MD, Kim DJ, Kiss Z, Kravchenko VI, Leventer-Roberts M, Lin CY, Luk AOY, Mata-Cases M, Mauricio D, Nichols GA, Nielsen MM, Pang D, Paul SK, Pelletier C, Pildava S, Porath A, Read SH, Roncaglioni MC, Lopez-Doriga Ruiz P, Shestakova M, Vikulova O, Wang KL, Wild SH, Yekutieli N, Shaw JE.

Trends in the incidence of diagnosed diabetes: a multicountry analysis of aggregate data from 22 million diagnoses in high-income and middle-income settings.

Lancet Diabetes Endocrinol. 2021 Apr;9(4):203-211. doi: 10.1016/S2213-8587(20)30402-2. Epub 2021 Feb 23. PMID: 33636102.

Perico L, Benigni A, Casiraghi F, Ng L F P, Renia L, Remuzzi G

Immunity, endothelial injury and complement-induced coagulopathy in COVID-19

Nat Rev Nephrol 2021 ; 17 : 46-64

Remuzzi A, Remuzzi G

Insights into glomerular filtration and albuminuria

N Engl J Med 2021 ; 385 : 477

Piras Rossella, Breno M, Valoti Elisabetta, Alberti M, Iatropoulos P, Mele C, Bresin E, Donadelli R, Cuccarolo P, Smith R J, Benigni A, Remuzzi G, Noris M

CFH and CFHR copy number variations in C3 glomerulopathy and immune complex-mediated membranoproliferative glomerulonephritis

Front Genet 2021 ; 12 : 670727

Noris M, Daina E, Remuzzi G

Membranoproliferative glomerulonephritis: no longer the same disease and may need very different treatment

Nephrol Dial Transplant 2021 ; E-pub

Longaretti L, Trionfini P, Brizi V, Xinari C, Mele C, Breno M, Romano Elena, Giampietro R, Remuzzi G, Benigni A, Tomasoni S

Unravelling the role of PAX2 mutation in human focal segmental glomerulosclerosis

Biomedicines 2021 ; 9 : 1808

Santamaria G, Brandi E, Vitola P, Grandi F, Ferrara G, Pischiutta F, Vegliante G, Zanier ER, Re F, Uccelli A, Forloni G, de Rosbo NK, Balducci C.

Intranasal delivery of mesenchymal stem cell secretome repairs the brain of Alzheimer's mice.

Cell Death Differ. 2021 Jan;28(1):203-218.

Papa S, Veneruso V, Mauri E, Cremonesi G, Mingaj X, Mariani A, De Paola M, Rossetti A, Sacchetti A, Rossi F, Forloni G, Veglianesi P.

Functionalized nanogel for treating activated astrocytes in spinal cord injury.

J Control Release. 2021 Feb 10;330:218-228

Pasetto L, Grassano M, Pozzi S, Luotti S, Sammali E, Migazzi A, Basso M, Spagnolli G, Biasini E, Micotti E, Cerovic M, Carli M, Forloni G, De Marco G, Manera U, Moglia C, Mora G, Traynor BJ, Chiò A, Calvo A, Bonetto V.

Defective cyclophilin A induces TDP-43 proteinopathy: implications for amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia.

Brain. 2021 Dec 31;144(12):3710-3726. doi: 10.1093/brain/awab333.

ATTIVITA' FORMATIVE 2021

NOME CORSO & DURATA	OBIETTIVI	STUDENTI FORMATI E REQUISITI RICHIESTI
Specialista in Ricerca Biomedica 3 anni	Il programma del corso si basa sul concetto di "training on the job", che non contempla una specifica attività didattica, ma una stretta interazione fra la preparazione culturale già acquisita all'università e l'esperienza pratica acquisibile in Istituto. Ciascun studente è inserito in un gruppo di ricerca ed è attivamente coinvolto nei progetti in corso, potendo così partecipare alla pianificazione, esecuzione e valutazione critica delle ricerche in ambito sperimentale e clinico-epidemiologico. Inoltre, gli studenti partecipano a frequenti corsi e seminari.	3 Soggetti in possesso di diploma di laurea secondo la legge 341/90, laurea di primo (triennale) o di secondo livello (D.M. 509/99 e D.M. 270/04) in discipline scientifiche (o titolo straniero ritenuto equipollente) e di effettiva conoscenza della lingua Inglese, come indicato nei bandi di concorso.
Scuola Avanzata in Farmacologia Avanzata (SAFA) 2 anni	La SAFA ha come obiettivo la formazione di ricercatori nel campo della farmacologia. Come per le altre offerte didattiche dell'Istituto, anche il percorso della SAFA prevede una stretta interazione fra una preparazione culturale avanzata ed esperienza pratica di ricerca	2 E' rivolta principalmente, anche se non esclusivamente, a soggetti che hanno già partecipato ad altri corsi di formazione interni all'Istituto. L'ammissione è regolata da un bando di concorso.

	sperimentale o clinica. Ciascun allievo è inserito in un gruppo di ricerca ed è attivamente coinvolto nei progetti in corso, avendo così l'opportunità di partecipare alla pianificazione, esecuzione e valutazione critica degli esperimenti. Al termine del biennio, l'allievo è in grado di pianificare e condurre in modo autonomo la propria attività di ricerca, anche utilizzando metodiche innovative. Durante il corso, l'allievo ha l'opportunità di partecipare alla stesura di articoli in inglese da sottoporre a riviste scientifiche internazionali ed alla preparazione di proposte di ricerca per organizzazioni pubbliche e private (sia nazionali che internazionali).	
Corso di Perfezionamento in Scienze Farmacologiche (Dottorato di Ricerca) 3 anni	L'obiettivo del corso è di formare ricercatori che alla fine del percorso possano avere raggiunto un'indipendenza nel progettare e condurre i progetti di ricerca. Il percorso formativo è caratterizzato da uno stretto rapporto fra la preparazione culturale avanzata e l'esperienza pratica di ricerca sperimentale (o clinica), cui è dato il maggior risalto. Ciascun allievo è inserito in	4 Soggetti che sono in possesso di diploma di laurea secondo la legge 341/90 o di laurea specialistica/magistrale secondo i D.D.M.M. 509/99 e 270/04 o di titolo straniero ritenuto equipollente, in discipline scientifiche.

	un gruppo di ricerca ed è attivamente coinvolto nei progetti in corso partecipando all'effettuazione degli studi, alla loro pianificazione e alla valutazione critica dei risultati. L'allievo ha la possibilità di utilizzare tutta la tecnologia e la strumentazione più moderna nel campo della biomedicina, acquisendo così un'approfondita conoscenza delle metodiche. Durante i seminari di Istituto e di Dipartimento, l'allievo viene a contatto con temi che normalmente esulano dal suo campo di interesse specifico dando la possibilità di ampliare il proprio bagaglio culturale. Infine i corsi monografici hanno lo scopo di fornire all'allievo un aggiornamento su tematiche specifiche. L'ambiente multidisciplinare dell'Istituto permette infine all'allievo di essere a contatto con tematiche e gruppi di ricerca molto eterogenei, confrontandosi con problemi che spaziano dalla biologia molecolare alla sperimentazione clinica e alla epidemiologia. Durante il corso l'allievo partecipa alla redazione di articoli in inglese su riviste	
--	---	--

	scientifiche internazionali e alla preparazione di proposte di ricerca per le organizzazioni pubbliche e private, italiane e internazionali.	
Corso PhD 4 anni	Il corso, della durata media di quattro anni, è destinato a laureati con esperienza di ricerca, buona conoscenza della lingua inglese e attitudine al lavoro di gruppo. Gli studenti svolgono la loro attività di specializzazione prevalentemente in un laboratorio dell'Istituto e sono progressivamente inseriti nei programmi di ricerca in corso. Essi sono tenuti a frequentare lezioni, seminari, corsi e convegni e ad utilizzare la biblioteca interna. L'Istituto fornisce a tutti l'accesso alle basi di dati di biomedicina e alle principali riviste scientifiche. Dopo l'ottenimento del titolo, per molti allievi si apre l'opportunità di trascorrere uno o più anni in laboratori all'estero.	2 Soggetti che sono in possesso di diploma di laurea secondo la legge 341/90 o di laurea specialistica/magistrale secondo i D.D.M.M. 509/99 e 270/04 o di titolo straniero ritenuto equipollente, in discipline scientifiche.
Corsi ECM 1 anno	Il corso consente al personale sanitario l'ottenimento di crediti formativi sia con corsi di formazione residenziali (massimo 30 persone), sia con progetti di ricerca sul campo, sia con eventi congressuali.	N° degli eventi residenziali presentati all'accREDITamento: 0 - N° di eventi residenziali (FAD BLENDED) accREDITati: 0 - N° di crediti rilasciati per eventi residenziali (FAD BLENDED): 0 - N° degli eventi di formazione sul campo attività di ricerca

		presentati all'accREDITamento: 53 (dopo Istruttoria Principale, durante il 2021 tolti 10 eventi di FSC) - N° di eventi di formazione sul campo (attività di ricerca) accREDITati: 43 - N° di crediti rilasciati per eventi di formazione sul campo (attività di ricerca): 14.410 -Partecipanti 2021: 1.456 → (43 progetti formazione sul campo) -N° totale crediti: 14.410 → (43 progetti formazione sul campo) Personale sanitario, medico e non medico, dipendente o libero professionista operante nella Sanità, sia privata che pubblica (medici chirurghi, psicologi, farmacisti, educatori professionali, infermieri, tecnici sanitari di laboratorio biomedico, biologi, tecnici sanitari di radiologia medica, privo di specializzazione.)
Corso per Clinical Monitor 23 mesi	Il programma del corso è strutturato su diversi livelli: lezioni teoriche, attività di monitoraggio in affiancamento ad un Clinical Monitor certificato, attività di monitoraggio autonomo, attività di ricerca di gruppo, seminari di Istituto o di Dipartimento, riunioni di laboratorio e corsi monografici. Ciascuno studente è inserito in un	2 Soggetti in possesso di laurea (triennale o quinquennale) in discipline scientifiche (o titolo straniero ritenuto equipollente) e di effettiva conoscenza della lingua inglese (parlata e scritta), come indicato nei bandi di concorso.

	gruppo di ricerca ed è attivamente coinvolto nei progetti in corso, potendo così partecipare alla pianificazione, esecuzione e valutazione critica delle attività svolte.	
Advanced school in computational chemistry addressing benefits and risks in life sciences through computational methods 3 anni	Il corso non prevede una specifica attività didattica, ma una stretta interazione fra la preparazione culturale (acquisita all'università) e l'esperienza pratica (acquisibile in Istituto). Lo studente è inserito in un laboratorio ed è coinvolto (sotto la guida di un docente) nei progetti di ricerca in corso, partecipando attivamente alla pianificazione, esecuzione ed analisi degli esperimenti.	6 Il corso è rivolto a laureati (laurea triennale o quinquennale) in discipline scientifiche (o titolo assimilabile) e di effettiva conoscenza della lingua Inglese (parlata e scritta).
Scientific writing academy 1 settimana	Il corso fornisce agli studenti la capacità di scrivere un articolo scientifico basato su risultati sperimentali. Il corso guida gli studenti ad un processo di analisi critica, risolvendo problemi pratici e affrontando scenari comuni di esperienza di ricerca scientifica. Fornisce gli strumenti necessari per la pubblicazione di articoli in riviste internazionali di alto impatto scientifico, la comprensione delle procedure previste dal processo di peer-review e nozioni per la stesura di	0 a Causa della pandemia Il corso è rivolto a ricercatori coinvolti nella ricerca di base e ricercatori clinici nel campo della nefrologia. È necessaria una buona conoscenza della lingua inglese.

	domande di partecipazione a bandi competitivi.	
Corso per Summer Student 7 settimane	L'offerta didattica consiste nella partecipazione a progetti di ricerca sperimentale. Gli studenti durante il corso hanno l'opportunità di essere inseriti in un laboratorio, utilizzando gli strumenti utilizzati comunemente nella ricerca sperimentale preclinica ed apprendendo i metodi di elaborazione dei dati ottenuti e delle informazioni presenti nella letteratura scientifica. Le principali tematiche affrontate sono: Ambiente e Salute, Biochimica e Farmacologia Molecolare, Neuroscienze, Oncologia, Ricerca Cardiovascolare.	0 a Causa della pandemia Il corso è rivolto a giovani interessati alla biomedicina che hanno terminato il quarto anno della scuola media superiore,
Alternanza Scuola Lavoro 2 settimane	Il corso offre agli studenti la possibilità di vivere l'esperienza del laboratorio osservando l'attività di ricerca quotidiana svolta dai ricercatori e di accedere ad una biblioteca ben aggiornata. Le principali tematiche affrontate sono: Bioingegneria, Medicina Molecolare, Medicina Renale, e Malattie Rare.	0 a Causa della pandemia Il corso è rivolto a giovani interessati alla biomedicina che hanno terminato il quarto anno della scuola media superiore.