



ISTITUTO DI RICERCHE
FARMACOLOGICHE
MARIO NEGRI · IRCCS

REPORT ATTIVITÀ 2022

INDICE

L'istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri IRCCS	pag 03
Struttura e organigramma	pag 05
Dipartimenti e laboratori	pag 06
Relazione sulle principali attività di ricerca dell'Istituto Mario Negri	pag 24
Selezione pubblicazioni scientifiche 2022	pag 92
Attività formative 2022	pag 103

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:

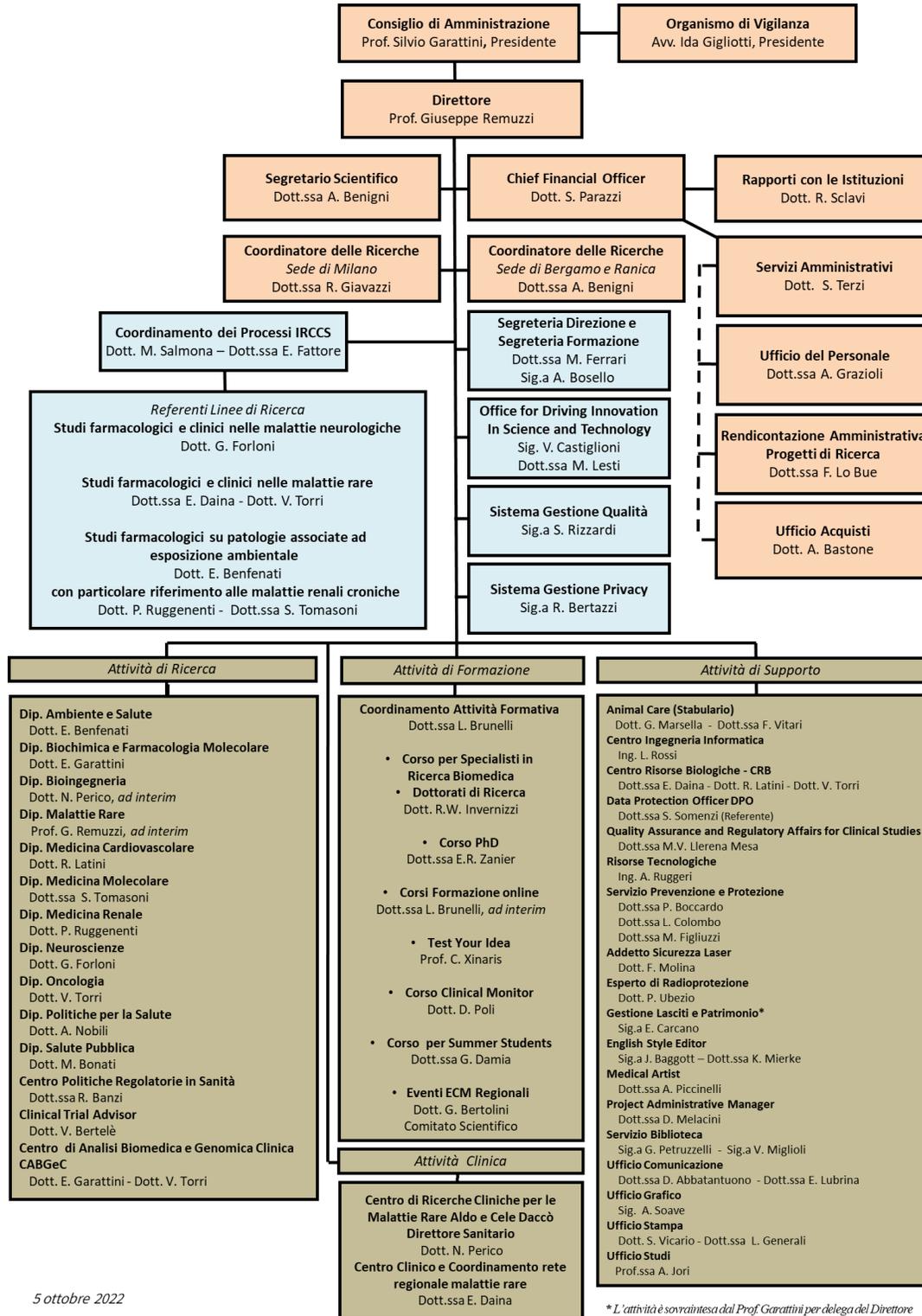
- la lotta contro il cancro
- le malattie nervose e mentali
- le malattie del cuore e dei vasi sanguigni
- le malattie renali
- i trapianti
- le malattie rare
- la salute pubblica
- gli effetti tossici delle sostanze che inquinano l'ambiente
- la lotta contro il dolore
- lo studio delle droghe
- la salute materno-infantile
- la valutazione dell'appropriatezza dell'uso dei farmaci
- la nutrizione come determinante di salute e fattore di sostenibilità ambientale
- tutela e sostegno al Servizio Sanitario Nazionale

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



5 ottobre 2022

* L'attività è sovrainvestita dal Prof. Garattini per delega del Direttore

DIPARTIMENTI & LABORATORI

Presso l'Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri IRCCS sono attivi 11 Dipartimenti:

- 7 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
11. Dipartimento di Politiche per la Salute

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. Inoltre, si sviluppano strategie per ridurre gli impatti, anche attraverso la sostituzione delle sostanze che possono risultare maggiormente a rischio. Anche gli effetti dei farmaci diffusi nell'ambiente vengono studiati, in particolare legati all'antibiotico resistenza e i consumi di droghe di abuso ed altre sostanze, quali alcool e nicotina 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 e tabacco riscaldato, vapore delle sigarette elettroniche, sostanze chimiche, alcool 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 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 indagando aspetti tossicologici quali cardiotossicità, nefrotossicità ed epatotossicità,
- Applicare l'approccio "epidemiologia delle acque reflue" (wastewater-based epidemiology), per identificare abitudini potenzialmente pericolose per la salute umana quali il consumo di droghe d'abuso, nicotina, alcool, e farmaci nella popolazione misurando specifici marcatori metabolici nelle acque di scarico urbane;

- Sviluppare nuove applicazioni dell'“epidemiologia delle acque reflue” per studiare indici dello stato di salute della popolazione quali la diffusione del virus SARS-CoV-2 e di resistenza agli antibiotici e valutare l'esposizione della popolazione a contaminanti del cibo ed ambientali;

- Studiare il destino ambientale di inquinanti emergenti (farmaci, prodotti per la cura personale, disinfettanti, plasticizzanti, perfluorati, prodotti industriali) in matrici acquose come acque reflue, di superficie e di falda, e matrici solide come fanghi di depurazione, letame, suoli e biota al fine di identificare potenziali rischi per la salute umana e supportare gli interventi legislativi;

- 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 Indicatori Epidemiologici Ambientali
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: Enrico Garattini

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 di elaborazione di immagini radio-diagnostiche, che rendono possibili analisi quantitative di strutture e processi biologici in vivo.

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
- Sviluppo di tecniche di segmentazione e quantificazione di strutture anatomiche e lesioni patologiche su immagini diagnostiche in risposta a specifiche esigenze cliniche
- Validazione clinica di nuove tecniche di imaging non invasive per lo studio della fisiologia e patofisiologia degli organi di interesse
- Identificazione e validazione di nuovi biomarcatori di imaging
- Studio delle alterazioni morfologiche ed emodinamiche nei diversi distretti vascolari e studio del ruolo dell'emodinamica nell'insorgenza delle malattie vascolari

Laboratori

1. Laboratorio di Medical Imaging
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

Capo Dipartimento: Roberto Latini

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:

- 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 preclinica.

Laboratori

1. Laboratorio Farmacologia Clinica Cardiovascolare
2. Laboratorio Fisiopatologia Cardiopolmonare

DIPARTIMENTO DI MEDICINA MOLECOLARE

Capo Dipartimento: Susanna Tomasoni

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 Riprogrammazione Cellulare e Terapia Genica
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, della malattia policistica dominante del rene, della nefropatia membranosa e sindrome nefrosica idiopatica, della nefropatia cronica del trapianto, delle complicanze cardiovascolari del paziente diabetico, nefropatico, dializzato o trapiantato e delle microangiopatie trombotiche, nonché terapie cellulari per indurre tolleranza al trapianto d'organo, prevenire le recidive di sindrome nefrosica idiopatica e rallentare la progressione della nefropatia diabetica.

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 XXIII 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
- Utilizzo di Cellule Mesenchimali per indurre tolleranza al trapianto d'organo, prevenire le recidive di sindrome nefrosica idiopatica e rallentare la progressione della nefropatia diabetica.

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 e ai modelli sperimentali.
- Individuare i biomarcatori nelle diverse malattie neurologiche e neuromuscolari 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
- Utilizzo di biomateriali per favorire il rilascio di farmaci e la loro selettività per diversi tipi cellulari
-

Laboratori

1. Laboratorio Danno Cerebrale Acuto e Strategie Terapeutiche
2. Laboratorio Neurobiologia dei Prioni

3. Laboratorio Malattie Neurologiche
4. Laboratorio Neurologia Sperimentale
5. Laboratorio Neurobiologia Molecolare
6. Laboratorio Neurochimica e Comportamento
7. Unità di Disfunzioni Neuromuscolari
8. Laboratorio Biologia delle Malattie Neurodegenerative
9. Laboratorio Psicofarmacologia Sperimentale
10. Laboratorio Meccanismi Molecolari Malattie da Poliglutamine

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 e cerebrali.

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 formulazioni basate sulle più innovative nanotecnologie e/o combinazioni di farmaci o del loro impiego “off-label”, sia in modelli sperimentali che in clinica
- Ottimizzare 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
7. Laboratorio di Oncologia Sperimentale

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

DIPARTIMENTO DI POLITICHE PER LA SALUTE

Capo Dipartimento: Alessandro Nobili

Il Dipartimento di Politiche per la Salute si occupa di sviluppare attività di ricerca, formazione e informazione per sostenere l'indipendenza, l'accessibilità e l'universalità del SSN.

In particolare, è coinvolto nella organizzazione promozione di politiche sanitarie mirate a tutelare il diritto alla salute delle persone, migliorare gli interventi di prevenzione e accesso alle cure, fornire un supporto agli organismi istituzionali nella programmazione e nella valutazione delle politiche sanitarie, con particolare attenzione all'appropriatezza e alla riduzione degli sprechi. Promuove, inoltre, interventi al personale sanitario mirati a razionalizzare l'uso dei farmaci, incentivando l'uso dei principi attivi con miglior rapporto beneficio/rischio e costo/beneficio.

Coordina inoltre lo sviluppo e l'aggiornamento di INTERCheck, uno strumento di supporto alla prescrizione adatto a valutare le terapie complesse dei soggetti anziani politrattati.

All'interno del Dipartimento è collocato anche il "Centro studi di politica e programmazione socio-sanitaria" che collabora con istituzioni, associazioni e professionisti impegnati nel campo della salute per creare e promuovere spazi di confronto e di ricerca per la riorganizzazione e il rilancio del SSN.

Obiettivi

- fornire supporto metodologico per l'organizzazione, la programmazione e la valutazione delle politiche sociosanitarie e dei relativi costi all'interno del SSN;
- promuovere la prevenzione e corretti stili di vita come alternativa all'uso dei farmaci e come strategia per un invecchiamento in salute;
- studiare i fattori di rischio biologici, alimentari, ambientali e sociali associati all'invecchiamento della popolazione e all'insorgenza di demenza;
- promuovere l'appropriatezza prescrittiva e l'etica della riduzione degli sprechi nei diversi contesti di cura del SSN;
- razionalizzare l'uso dei farmaci e promuovere il deprescribing negli anziani in politerapia e in altre popolazioni a rischio;
- promuovere la ricerca clinica nella medicina del territorio e l'integrazione delle cure all'interno della rete dei servizi alla persona;

- sviluppare strategie organizzative e sostenere l'implementazione di interventi psicosociali per supportare i servizi di salute mentale di comunità;
- realizzare interventi di formazione e informazione indipendente per promuovere l'appropriatezza prescrittiva tra gli operatori del SSN;
- strutturare interventi e strategie dal punto di vista dei pazienti.
- All'interno del Dipartimento è presente il **Centro studi di politica e programmazione socio-sanitaria** che ha come obiettivo di fornire un supporto metodologico per l'organizzazione e la realizzazione di interventi e progetti mirati a: migliorare gli interventi di prevenzione e accesso alle cure, indirizzare le scelte politiche per la salute sulla base di interventi di documentata efficacia, promuovere l'appropriatezza e la riduzione degli sprechi, promuovere la salute delle persone con attenzione all'ambiente, coinvolgere i cittadini e le comunità nelle scelte per la salute e tutelare i fondamenti di universalità, uguaglianza ed equità del SSN pubblico evitando la deriva del SSN verso una sanità e un sistema sanitario privati.
- Le attività e le pubblicazioni scientifiche sono accessibili consultando il sito:
<https://www.marionegri.it/centro-studi-di-politica-e-programmazione-socio-sanitaria>

Laboratori

1. Laboratorio Prevenzione Cardiovascolare
2. Laboratorio di Farmacoepidemiologia e Nutrizione Umana
3. Laboratorio di Farmacologia Clinica e Appropriatezza Prescrittiva
4. Laboratorio di Epidemiologia Geriatrica
5. Laboratorio Valutazione della Qualità delle Cure e dei Servizi
6. Centro di Economia Sanitaria "Angelo e Angela Valenti" - CESAV

RELAZIONE SULLE PRINCIPALI ATTIVITÀ DI RICERCA DELL'ISTITUTO MARIO NEGRI

I NUMERI DELLA RICERCA 2022

173	492	4633
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) farmaci in grado di interferire con il metabolismo del colesterolo che hanno dimostrato effetti terapeutici in modelli di **epilessia** acquisita (Salamone et al, 2022). Sempre in ambito epilessia è stato inoltre possibile approfondire i meccanismi molecolari che sottendono all'effetto terapeutico delle resolvine molecole endogene che promuovono la risoluzione della neuroinfiammazione e che migliorano significativamente il decorso della malattia (Mikroulis et al, 2022). Sono stati anche identificati i meccanismi molecolari attivati dalla citochina anti-infiammatoria IL-10 nel contesto delle epilessie strutturali farmacoresistenti (Ruffolo et al, 2022).

ii) la definizione del ruolo della neuroinfiammazione nell'insorgenza e nella progressione di **eventi patologici acuti e cronici** (Forloni et al, 2022);

iii) l'utilizzo di modelli murini di sclerosi laterale amiotrofica (SLA) geneticamente modificati per individuare il ruolo del sistema immunitario/ infiammatorio nella patofisiologia di questa malattia quale target terapeutico. Abbiamo osservato come l'induzione della chemochina MCP1 (*Monocytes Chemoattractant Protein 1*) nel muscolo scheletrico sia in grado di migliorare il fenotipo clinico nel modello murinico di SLA a lenta progressione, attraverso un aumento dell'infiltrato macrofagico protettivo. Al contrario, nei topi a rapida progressione lo stesso

trattamento porta ad un peggioramento della malattia dovuto all'incapacità di attivare questo processo (Trolese et al, 2022). Da questo studio è emersa l'ipotesi che i meccanismi alla base della mobilitazione e del reclutamento dei monociti/macrofagi a livello muscolare possano rappresentare delle discriminanti biologiche in grado di definire la velocità di progressione della SLA.

iv) lo studio di possibili approcci terapeutici in modelli di **malattia di Alzheimer (AD)**, attraverso una collaborazione con l'Università di Milano è stato sviluppato un peptide (PEP3) in grado di ripristinare l'espressione dell'enzima ADAM10 (i cui livelli si riducono nell'ippocampo dei pazienti con AD) nel cervello dei topi modelli di AD, importante per la funzionalità sinaptica e quindi i processi cognitivi. Il trattamento con PEP3 ha indotto un recupero della struttura e della plasticità sinaptica con conseguente recupero della memoria nel modello murino di AD (Musardo et al. 2022). Nel 2022 abbiamo anche avviato un nuovo studio per lo sviluppo di un approccio radioterapico rivoluzionario nel campo dell'AD, considerando l'urgente necessità di sviluppare approcci più efficaci (Imbimbo et al, 2022).

v) l'utilizzo di modelli murini di **malattie da prioni** geneticamente modificati per comprenderne i meccanismi patogenetici. Abbiamo inoltre scoperto che la fosfatasi calcineurina controlla i livelli di PrP nelle cellule astrocitarie del cervello (Dematteis et al, 2022). Questa osservazione apre la possibilità di modulare farmacologicamente i livelli di PrP cerebrali a fini terapeutici agendo sull'attività della calcineurina;

vi) Sviluppo e utilizzo di modelli cellulari e murini di **trauma cranico**. In una percentuale non irrilevante di casi, un trauma cranico lieve che generalmente produce effetti transitori, può causare deficit neurologici persistenti. Nel modello murino abbiamo dimostrato che un singolo trauma cranico di lieve entità con effetti scarsamente rilevabili a tempi brevi, provoca deficit neurologici ascrivibili all'attivazione di una risposta neuroinfiammatoria che persiste per settimane dopo il trauma ed è rilevabile tramite imaging PET (Drieu et al, 2022). In seguito a traumi lievi ripetuti nel tempo come avviene nel caso di sport da contatto non solo a livello agonistico ma anche amatoriale possono esserci dei fenomeni patologici persistenti. In un modello murino di trauma cranico lieve e ripetuto (rmTBI), abbiamo dunque voluto indagare gli affetti fino ad 1 anno dopo il trauma. In fase acuta, abbiamo osservato la presenza di deficit sensorimotori transitori che si risolvono nel giro di un mese ma che emergono nuovamente ad un anno, assieme alla comparsa di un declino della funzione cognitiva. Tali effetti sono preceduti da un danno alla sostanza bianca rilevabile già 6 mesi dopo il rmTBI tramite tecniche di risonanza magnetica. La valutazione precoce (7 giorni dopo rmTBI) del biomarcatore plasmatico di danno assonale (NfL), ha mostrato una correlazione con l'atrofia della sostanza bianca un anno dopo il trauma. Questi dati sono di estrema rilevanza in quanto mostrano che la misurazione di NfL acutamente dopo il trauma può dare informazioni sulla suscettibilità del cervello ad un secondo impatto, guidando gli sportivi nella scelta di un maggior riposo prima del ritorno all'attività fisica (Moro et al, 2022).

vii) Gli studi sull'**atrofia muscolare** si sono estesi da un ambito prettamente oncologico a modelli neurologici mettendo in luce il ruolo delle miochine, ovvero le molecole secrete del muscolo che possono essere indotte da esercizio fisico aerobico o anaerobico. Sono in corso studi per comprendere il collegamento tra le molecole che abbiamo dimostrato essere importanti nella progressione dell'atrofia muscolare come SDF1 (*Stromal cell-Derived Factor 1*), PAK1 (*serine/threonine-protein kinase 1*) e la proteina musclin, e il loro andamento anche in altre condizioni associate ad atrofia muscolare (invecchiamento, SLA, sindrome di Rett, fragilità, distrofia muscolare di Duchenne). In collaborazione con l'Università di Milano, abbiamo sviluppato una nuova tecnologia, definita MyoRep (Myo sta per muscolo e Rep per reporter), in grado di "biosentire" l'atrofia muscolare a livello precoce e indipendentemente dal ritmo circadiano in modelli animali con la tecnica di *in vivo* imaging. Tale tecnologia verrà applicata per seguire l'atrofia muscolare in modelli di SLA, cachessia tumorale e invecchiamento.

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. Nell'ambito della terapia farmacologica, il trattamento selettivo mediante nanovettori delle cellule che mediano la risposta infiammatoria è in grado di massimizzare gli effetti terapeutici del farmaco, riducendone le dosi. In particolare, abbiamo dimostrato che il trattamento della componente astrocitaria mediante nanovettori caricati con un farmaco antiinfiammatorio (rolipram) promuove il recupero dell'attività locomotoria in seguito a LMS, riducendo i livelli di astrocitosi e morte neuronale (Pinelli et al, 2022).

c. 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, ICON-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** (Forloni et al, 2022).

d. Nell'ambito degli studi clinici nella **SLA** è stata pubblicata una revisione sistematica volta ad investigare il rischio di diagnosticare una malattia neurodegenerativa o cognitiva nei soggetti che svolgono attività fisica a livello professionistico (Bellomo et al, 2022). È in corso uno studio volto ad indagare quali siano i bisogni e le aspettative dei pazienti e dei *caregiver* al fine di poter meglio indirizzare le attenzioni del personale assistenziale e dei ricercatori. Nel 2022 è iniziata la raccolta dei dati, intervistando i soggetti SLA e i loro caregiver più del 50% del campione è stato intervistato ottenendo una ottima adesione da parte dei soggetti coinvolti. A seguito di un precedente studio che ha dimostrato un'efficacia seppur modesta della L-acetil-carnitina nella SLA, molte Regioni hanno introdotto l'uso di questo farmaco nel piano terapeutico regionale. Per verificare se, nella *real life* e su un vasto campione, l'effetto da noi osservato nello studio pilota fosse verificato, abbiamo coordinando uno studio osservazionale retrospettivo per

verificare se l'assunzione di carnitina a diversi dosaggi abbia o meno un effetto benefico. Nel 2022 è stato completato l'arruolamento dei soggetti ed è ora in corso l'elaborazione dei risultati.

e. L'associazione tra COVID-19 e malattie neurologiche è stata oggetto di studio sotto forma di revisioni sistematiche della letteratura (Biagianti et al. 2022), sondaggi sulla tipologia dei disturbi, valutazione critica degli studi pubblicati, e creazione di modelli adeguati ad una raccolta dati armonica e funzionale ad un confronto tra popolazioni demograficamente diverse. Questa attività ha preso le mosse all'inizio della pandemia e ha condotto alla creazione di un registro europeo (ENERGY - Ean NEuro-covid ReGistry) per la raccolta di dati sulle manifestazioni neurologiche di COVID-19 e del loro impatto sulla gravità e sul decorso della malattia. Su richiesta dell'Organizzazione Mondiale della Sanità, il nostro Istituto partecipa ad un Global Forum che ha condotto allo sviluppo di una serie di moduli di raccolta dati nelle diverse fasi della malattia (acuta, post-acuta e di follow-up). Dagli studi fin qui effettuati sono emersi, pur nella diversità delle stime prodotte, alcuni risultati di rilievo. La presenza di disturbi neurologici associati ai sintomi dell'infezione comporta una maggior gravità di malattia, come risulta dalla maggior durata dell'ospedalizzazione, dal più elevato rischio di ricovero in terapia intensiva, dalla presenza di sequele e dalla più elevata mortalità intraospedaliera (Beghi et al, 2022).

f. Il nostro Istituto partecipa al progetto "Registro Italiano Sclerosi Multipla e Patologie Correlate" promosso dalla Fondazione Italiana Sclerosi Multipla - FISM Onlus e l'Università degli Studi di Bari. Il Registro ha come obiettivo principale quello di creare una struttura organizzata multicentrica per raccogliere i dati di tutti i pazienti affetti da SM e patologie correlate seguiti nei diversi centri italiani con finalità epidemiologiche, di sanità pubblica e di ricerca per migliorare le conoscenze sulle cause e sui trattamenti della malattia. Ad oggi il Registro raccoglie attraverso una *web application* sviluppata ad hoc i dati di più di 80.000 soggetti unici raccolti da più di 130 centri (<https://registroitalianosm.it>). In questo contesto, il nostro Istituto organizzato come STO-struttura tecnico-operativa ha funzioni di coordinamento delle attività del progetto ed è parte del comitato scientifico. I dati del Registro saranno utili per promuovere l'equità di accesso alle cure confrontando le pratiche terapeutiche assistenziali dei diversi centri, nonché per studiare e valutare le politiche assistenziali di carattere nazionale e locale (Iaffaldano et al, 2022; Celani et al, 2022; Bergamaschi et al, 2022). I dati raccolti con il Registro saranno inoltre oggetto di analisi ad hoc discusse e approvate all'interno delle attività del Comitato Scientifico, ad esempio mirate a i) dare indicazioni sull'efficacia e sulla sicurezza a lungo termine nella normale pratica clinica di terapie per le quali si hanno dati provenienti da studi randomizzati, in generale con follow-up di breve termine; ii) permettere confronti head-to-head tra diverse strategie di trattamento.

g. È stato avviato uno studio sullo stato vegetativo sia svolgendo una revisione della letteratura, sia con la conduzione di uno studio osservazionale volto a verificare i percorsi terapeutici e le caratteristiche cliniche di pazienti ricoverati in alcune strutture lombarde. A questo viene associata un'indagine sulla qualità di vita dei loro caregiver.

L'Istituto ha partecipato al disegno e collabora nel coordinamento dello studio traslazionale *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). I risultati dello studio sono previsti per il 2023.

h. L'Istituto da 20 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. Recentemente i dati sulla prevalenza della demenza nei soggetti centenari di questo studio sono stati pubblicati in un lavoro assieme a quelli di altri gruppi attivi a livello mondiale che si occupano di popolazioni centenarie (Leung Y et al, 2022).

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 di Epidemiologia degli Stili di Vita dell'Istituto Mario Negri di Milano studia quanto questo disturbo sia frequente nella popolazione e quale sia la sua distribuzione nei sessi e nelle differenti classi di età, conducendo sia indagini trasversali sulla popolazione generale italiana ed europea, che revisioni sistematiche e meta-analisi (Jarach CM et al, 2022). Inoltre, il Laboratorio conduce e analizza studi caso-controllo e di coorte per identificare quali siano i potenziali fattori di rischio legati all'insorgenza e alla severità dell'acufene.

l. Il comportamento prescrittivo degli psichiatri dei servizi di salute mentale viene indagato in relazione alle benzodiazepine in uno studio che ha coinvolto tutti i servizi di salute mentale della Azienda Provinciale per i Servizi Sanitari di Trento. Lo studio quantifica le prescrizioni di benzodiazepine per l'insonnia in tutta la popolazione seguita dai servizi e verifica i cambiamenti dopo la formazione a un intervento psicologico per l'insonnia e la sua introduzione nei servizi. Nel 2022 è stata conclusa l'implementazione dell'intervento psicologico in tutti i servizi, che ha coinvolto un totale di 110 persone, ed è stata condotta la seconda rilevazione delle prescrizioni. Dati preliminari suggeriscono che il numero di persone a cui vengono prescritte benzodiazepine per l'insonnia non è diminuito dopo l'introduzione dell'intervento psicologico.

m. All'interno Joint Action europea ImpleMENTAL, il Laboratorio di Valutazione della Qualità delle Cure e dei Servizi si occupa di supportare con formazioni mirate l'implementazione di attività volte a rafforzare o avviare la costruzione di servizi di salute mentale basati sulla comunità e in alternativa a soluzioni di carattere istituzionale. È stato costruito il rationale della formazione da offrire ai tredici paesi partecipanti e si sono avviati gli incontri con i singoli paesi per definire le necessità formative connesse ai piani di implementazione delle attività volte alla trasformazione e al miglioramento dei servizi.

n. Il tema dell'offerta di interventi psicologici alla popolazione generale è stato trattato dalla Consensus Conference sulle terapie psicologiche per ansia e depressione dell'Istituto Superiore di Sanità, che aveva come obiettivi generali promuovere la conoscenza e

l'applicazione delle terapie psicologiche di efficacia dimostrata per ansia e depressione e favorire l'accessibilità della popolazione a cure appropriate, in particolare psicologiche, in modo da ridurre l'attuale gap di trattamento, in riferimento alla situazione italiana. In base a revisioni di letteratura e audizioni specifiche, la giuria ha prodotto una serie di raccomandazioni in relazione a: a) efficacia e applicabilità al contesto italiano delle linee guida, delle terapie e dei modelli organizzativi attualmente disponibili; b) modalità, strumenti e procedure per individuare le persone che possono beneficiare di terapie psicologiche per ansia e depressione; c) formazione e aggiornamento dei professionisti che intervengono con le persone che presentano problemi di ansia e di depressione; d) risorse necessarie, modelli organizzativi e percorsi diagnostico-terapeutici per facilitare l'accesso alle terapie psicologiche (Barbato A et al, 2022).

o. Lo studio di Monitoraggio del Piano Urbano segue e registra gli esiti dei pazienti con disturbi mentali gravi seguiti dalla Cooperativa Proges, ad essa inviati da tutti i Centri Psicosociali di Milano allo scopo di essere trattati in modo personalizzato e condiviso con attività significative per la persona e finalizzate ad obiettivi precisi e condivisi da perseguire attingendo alle risorse esistenti nel territorio.

Sono stati analizzati i dati derivanti dal database Pronto Badante allo scopo di identificare l'impatto e l'evoluzione dei bisogni di cura e di assistenza legati a situazioni urgenti sostenute dalla Regione Toscana.

In collaborazione con la Fondazione Alzheimer è stato avviato un Progetto articolato volto alla valutazione della fattibilità e degli effetti della pianificazione condivisa delle cure nella demenza agli esordi. È stata condotta una ricerca qualitativa basata su un focus group a cui hanno partecipato operatori sanitari e sociali e volontari e uno con persone anziane e caregiver che hanno messo in evidenza l'interesse dei partecipanti per la pianificazione condivisa delle cure e alcune preoccupazioni relative ad essa. In base a questi elementi, è stata avviata la definizione di uno studio pilota che testerà l'accettabilità e la fattibilità della pianificazione condivisa delle cure con persone con demenza agli esordi e degli strumenti predisposti per la sua realizzazione.

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 di 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.

L'Istituto è stato identificato fin dal 2001 da Regione Lombardia quale Centro di Coordinamento della Rete regionale malattie rare. Tale provvedimento, riconfermato in successive delibere di aggiornamento e ridefinizione della Rete (ultima DGR N° XI/7753 del 28/12/2022) attua a livello regionale il dettato del Decreto Ministeriale N° 279 del 2001 che ha istituito la Rete nazionale per le malattie rare, coordinata dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS). La sede di Ranica dell'Istituto ha acquisito la Certificazione UNI EN 9001/2015 per "Erogazione di prestazioni sanitarie in regime di day-hospital e ambulatoriali" e per "erogazione di prestazioni di laboratorio generale e specializzato", sia per le attività cliniche che per quelle di ricerca (Certificato n: 27361 del 02/07/2019 settore IAF 38 e 34 rilasciato da Certiquality).

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 ed 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 ad infezione gastrointestinale) oppure dopo infusione di plasma o plasmaferesi. Alcuni pazienti vanno invece incontro ad 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 diacilglicerolochinasi ϵ (DGKE). Grazie a questi studi si è potuto dimostrare che il fenotipo clinico, la risposta al trattamento, la prognosi a lungo termine ed 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 ed il trattamento con eculizumab per curare la SEU atipica e per prevenire o trattare in modo efficace le recidive della malattia dopo trapianto renale.

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.

La gravidanza ed il *post-partum* sono stati a lungo riconosciuti come periodi ad alto rischio per diverse forme di microangiopatia trombotica (*Thrombotic microangiopathy*, TMA). Negli ultimi 2 decenni, i progressi nella comprensione e quindi nel trattamento di tali condizioni hanno comportato un significativo miglioramento anche delle TMA associate alla gravidanza ed al puerperio. Ricercatori dell'Istituto hanno partecipato ad un gruppo di lavoro multidisciplinare internazionale di esperti (ostetrici, nefrologi, ematologi, intensivisti, neonatologi e biologi del complemento) che ha contribuito ad approfondire le conoscenze nel campo delle TMA che si verificano in relazione alla gravidanza ed a fornire una guida pratica per i clinici. Più recentemente, il lavoro si è esteso alla redazione di raccomandazioni per la gestione della gravidanza in pazienti con malattie glomerulari (Fakhouri et al, 2022). Particolare attenzione viene infine riservata allo studio di casi complessi nei quali la TMA coesiste con altre malattie o determina complicanze particolarmente severe (Leone et al, 2022; Valoti et al, 2022).

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 (1739 pazienti con SEU/PTT segnalati da 190 Centri italiani, 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 PTT. 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 ed 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 della 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.

Gli approfondimenti proseguono nell'ambito del progetto "*Development of HMEC-1 C5b-9 deposition assay*". Inoltre, una collaborazione multicentrica ha recentemente consentito di rivedere e caratterizzare la coorte di pazienti affetti da SEU associata a nefropatia da IgA (Manenti et al, 2022).

Nel 2022 si è concluso un programma di ricerca condotto utilizzando il test *ex-vivo*. 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 che non solo blocca la frazione C5 del complemento ma, diversamente dall'eculizumab, ne promuove l'internalizzazione e la degradazione nelle cellule. I risultati hanno dimostrato che la miscela plasma-siero di pazienti con SEU atipica induceva una massiccia formazione di C5b-9 sulle cellule endoteliali umane della microcircolazione (HMEC-1) paragonabile a quella ottenuta con solo siero. L'inibitore C5 SKY59 ha quasi completamente normalizzato la formazione di C5b-9 sulle cellule HMEC-1, con una efficacia comparabile con quella dell'eculizumab.

Gli studi sperimentali sono stati condotti con i seguenti obiettivi:

- Studiare il ruolo dell'attivazione del sistema del complemento a livello dell'endotelio e analizzare il legame tra complemento e formazione di trombi nella SEU tipica.
- Valutare l'interazione di C5a con il recettore C5aR1 espresso dalle HMEC-1 nell'indurre la formazione di trombi nei piccoli vasi dei pazienti con SEU atipica. Poiché anche nei pazienti con forme gravi di COVID-19 si possono osservare fenomeni trombotici e un'attivazione incontrollata del complemento, si è inoltre valutato se, anche in questa patologia, l'interazione C5a/C5aR1 fosse responsabile della perdita delle proprietà anti-trombotiche endoteliali. I risultati suggeriscono che il C5a sia un effettore pro-trombotico in diverse patologie nelle quali si ha un'attivazione incontrollata del complemento, che vanno dalle malattie genetiche rare, come la SEU atipica, alle infezioni virali, come il COVID-19 (Aiello et al, 2022).
- Comprendere i meccanismi attraverso i quali farmaci che inibiscono C3aR o intercettano C3 potrebbero rappresentare una nuova strategia terapeutica in pazienti con SEU tipica (Buell et al, 2022).
- Valutare come nuovi composti che potenziano l'attività dei regolatori della via alternativa del complemento sulla superficie cellulare senza bloccare l'attivazione sistemica, possano correggere il difetto di regolazione del complemento nella SEU atipica minimizzando il rischio

di infezioni. Questi nuovi composti potrebbero rappresentare una promettente e sicura alternativa all'eculizumab nel trattamento della SEU atipica.

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/>).

Nato nel 2006, il Registro delle MPGN/C3G ha permesso di raccogliere i campioni biologici di 599 pazienti, 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 ed 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 2022 si sono svolti i seguenti studi:

- Definizione della stratificazione dei pazienti con C3G/IC-MPGN per una migliore diagnosi ed un trattamento personalizzato (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, il progetto implementa 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 ed individuare per questi pazienti delle strategie terapeutiche mirate. I risultati ottenuti saranno cruciali per il successo di trial clinici ed aiuteranno i clinici ad offrire ai loro pazienti una maggiore possibilità di migliorare la propria condizione e limitare gli effetti collaterali derivanti dall'impiego di inibitori non selettivi, nonché 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 ed immunologico, dei quali sono disponibili i dati clinici e le caratteristiche biochimiche.

Sono stati in particolare 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. Il significato prognostico dei cluster sarà valutato confrontando gli outcome renali dei pazienti durante il follow-up. Il raggiungimento del primo obiettivo - classificare i pazienti attraverso una robusta analisi di cluster su un maggiore numero di pazienti e includendo nuove informazioni sui riarrangiamenti genomici e i nuovi geni associati alla malattia - consentirà di identificare gruppi omogenei di pazienti che condividono il meccanismo con cui si sviluppa la malattia e che potranno beneficiare di specifiche terapie che modulano l'attività del complemento. Questo progetto fornirà inoltre uno strumento di calcolo con un'interfaccia semplice e facile da gestire che consenta di assegnare un paziente ad un cluster utilizzando un numero limitato di dati genetici, di laboratorio e clinici. Lo sviluppo di questa piattaforma permetterà ai clinici di rendere più veloce il passaggio dall'osservazione dei pazienti alla diagnosi. Verrà inoltre sviluppato un metodo computazionale innovativo e di facile utilizzo che permetterà ai clinici di assegnare il loro paziente ad uno specifico cluster, consentendo una diagnosi corretta e la possibilità sia di orientarsi verso un trattamento idoneo che di indirizzare i pazienti verso gli studi clinici più adatti alle loro caratteristiche.

Le analisi proteomiche e metabolomiche sono state eseguite sul siero e le urine di 10 pazienti selezionati in modo del tutto casuale all'interno di ciascun cluster precedentemente identificato, di 10 controlli sani e 40 controlli affetti da glomerulosclerosi focale segmentale. È in corso l'analisi dei dati. Con le analisi proteomiche e metabolomiche ci aspettiamo di individuare per ciascun cluster dei biomarker specifici, utili da identificare nuove strategie terapeutiche. Le analisi di proteomica e metabolomica verranno eseguite nei laboratori "Proteomics laboratory, Center of Systems Biology", situato ad Atene (GR) e "Analytical Biogeochemistry Unit", situato a Monaco, in Germania. Il terzo obiettivo del progetto è quello di identificare potenziali terapie specifiche per i pazienti di ciascun cluster. Questa ipotesi verrà testata analizzando l'effetto del siero dei pazienti sull'attivazione del complemento ed altri parametri della fase fluida, della fase solida e delle cellule renali, e di inibitori dell'attivazione del complemento, rivolti verso i biomarker individuati attraverso le analisi omiche. I risultati ottenuti forniranno il razionale per disegnare protocolli di fase 2 esplorativi, in gruppi di pazienti caratterizzati.

Un ulteriore work package del progetto DECODE prende in considerazione i bisogni e le preoccupazioni dei pazienti e dei loro genitori per capire come organizzare al meglio i prossimi studi clinici e migliorarne sia la qualità che l'efficacia complessiva. Ai pazienti affetti, o ai loro genitori per i casi pediatrici, è stata offerta l'opportunità di partecipare ad un sondaggio online. Il sondaggio, disponibile in 6 lingue (<http://www.era-decode.eu/survey.html>), è frutto di una collaborazione con le associazioni di pazienti: "Progetto DDD Onlus", "The Dutch Kidney Patients Association" e "German association for rare complement-mediated diseases". I risultati dei sondaggi saranno disponibili a partire dal 2023 sul sito web del progetto DECODE.

- Studio UNEARTH: ricerca dei meccanismi molecolari che causano malattie glomerulari rare mediate dal sistema del complemento per identificare terapie personalizzate. Lo studio prende spunto dall'ipotesi, supportata da robusti dati preliminari, che le anomalie genetiche associate alle 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 e, in particolare, dei podociti. Gli obiettivi specifici sono: 1) Caratterizzare le conseguenze delle anomalie identificate in C3 e CFH-CFHRs, i geni più frequentemente alterati nelle IC-MPGN/C3G, in relazione all'attivazione del complemento nella fase fluida e sulle cellule glomerulari; 2) Analizzare gli effetti delle anomalie genetiche di C3 e CFH-CFHRs sul fenotipo, funzione podocitaria e sul *crosstalk* endotelio-podocita; 3) Determinare gli effetti delle alterazioni di IQGAP1 su struttura e funzione dei podociti, nonché sull'attivazione secondaria del complemento; 4) Valutare l'effetto degli inibitori che agiscono a differenti livelli e su diversi componenti del sistema del complemento, al fine di prevenirne la deposizione e correggere la disfunzione dei podociti indotta dalle specifiche anomalie genetiche di C3, CFH-CFHR e IQGAP1 identificate nei nostri pazienti con IC-MPGN/C3G. I risultati di questo studio, che prevede l'utilizzo dei campioni biologici relativi a 23 pazienti, consentiranno di caratterizzare gli agenti molecolari coinvolti nelle 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.

- Studi clinici per testare l'efficacia di nuovi farmaci inibitori del complemento in pazienti con IC-MPGN/C3G. Attualmente non esiste una terapia specifica per IC-MPGN/C3G. Negli

ultimi anni, il successo dell'eculizumab nel trattamento di altre malattie complemento-mediate ha stimolato l'interesse dell'industria farmaceutica per lo sviluppo di inibitori che abbiano come bersaglio vari componenti della cascata del complemento. Tuttavia, non è attualmente noto quali pazienti potrebbero beneficiare della terapia con eculizumab e quali invece necessitino di un "blocco" ad un livello iniziale della cascata del complemento. Il fattore D è una proteasi che porta alla formazione dell'enzima C3 convertasi, il complesso responsabile dell'amplificazione del processo di attivazione della via alternativa. I risultati dello Studio in aperto di fase 2 *proof-of-concept* in pazienti con C3G o IC-MPGN trattati con un inibitore del fattore D (ACH 0144471, ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03459443), conclusosi nel 2021, sono stati presentati in due lavori dedicati a descrivere le caratteristiche dei pazienti e l'outcome del trattamento (Podos et al, 2022; Nester et al, 2022).

Il nostro Centro partecipa inoltre ai seguenti studi clinici internazionali:

- **LNP023 (iptacopan) in C3G** (*ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03832114*). Si tratta di uno studio in aperto, non randomizzato, sull'efficacia, farmacocinetica, farmacodinamica, sicurezza e tollerabilità di LNP023 in due popolazioni di pazienti con C3G. Questo studio, che prevede il trattamento con un inibitore del fattore B, ha incluso sia pazienti con ridotti livelli di C3 nel sangue e un quadro di C3G sui reni nativi (coorte A), sia pazienti con C3G che dopo il trapianto hanno avuto una recidiva della malattia (coorte B). L'obiettivo principale per i pazienti non trapiantati era attestare l'efficacia del trattamento per somministrazione orale nella riduzione della proteinuria, mentre per i pazienti trapiantati era quello di verificare una eventuale riduzione del deposito di C3 nelle biopsie renali. Lo studio valutava inoltre l'effetto di dosi da impiegare in un successivo trial di fase 3. Il nostro Centro ha arruolato tre pazienti nella coorte A (malattia su reni nativi) ed un paziente nella coorte B (recidiva di malattia su rene trapiantato). I risultati preliminari, presentati nel 2021 (*Nephrology Dialysis Transplantation* 2021 36: SUPPL 1, i25-) hanno dimostrato una significativa efficacia del farmaco nel ridurre la proteinuria e hanno aperto la strada per uno studio di estensione al quale stanno partecipando tre dei quattro pazienti (*OL Extension Study of LNP023 in C3G*; ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03955445) e per un trial di fase 3.

- **Studio APPEAR-C3G** (*ClinicalTrials.gov Identifier: NCT04817618*). 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

- **Studio NOBLE** (*APL2-C3G-204*; *ClinicalTrials.gov Identifier: NCT04572854*). Studio randomizzato, controllato, in aperto, di fase 2 per valutare la sicurezza e l'efficacia di pegcetacoplan nel trattamento della recidiva post-trapianto di C3G o IC-MPGN. Pegcetacoplan è un peptide ciclico sintetico coniugato ad un polimero di polietilenglicole che si lega specificamente al C3 ed al C3b, bloccando tutte e tre le vie di attivazione del complemento.

- **Studio VALIANT** (*APL2 C3G-310*; *ClinicalTrials.gov Identifier: NCT05067127*). Studio di fase 3, randomizzato, controllato con placebo, in doppio cieco e multicentrico volto a valutare l'efficacia e la sicurezza di pegcetacoplan in pazienti affetti da C3G o MPGN da immunocomplessi.

È noto che l'alterata regolazione della via alternativa (AP) del complemento e la sua accelerata attivazione causano o aggravano diverse condizioni patologiche in cui il danno renale determina la comparsa di ematuria, proteinuria e da ultimo lo sviluppo di insufficienza renale cronica. Come negli anni hanno dimostrato gli studi condotti dall'Istituto Mario Negri (Noris & Galbusera, 2022), è probabile che più difetti genetici ed acquisiti, che interessano le proteine plasmatiche o di membrana, siano necessari per modificare le normali vie di protezione dei tessuti e conferire una particolare predisposizione alle malattie renali mediate dall'attivazione della via alternativa del complemento. Abbiamo recentemente esaminato in un articolo pubblicato su *Immunological Review* (Daina et al, 2022), in che misura le nostre attuali conoscenze permettono di identificare i meccanismi che sottendono le malattie renali da AP e discusso le evidenze cliniche disponibili a sostegno di terapie dirette a controllare le varie vie di attivazione del complemento. Tuttavia, incorporare queste terapie nella pratica clinica si è dimostrato particolarmente arduo. La terapia anti-complemento ha trasformato in modo netto l'esito della SEU, una delle malattie renali più severe. Farmaci innovativi che modulano l'alterata regolazione della via alternativa del complemento hanno aperto nuove prospettive nella cura di altre malattie renali in cui è presente un'attivazione del complemento, ad esempio la C3G, la MPGN da depositi di immunocomplessi, la nefropatia membranosa (NM), le vasculiti ANCA-associate, la nefropatia da IgA e la nefrite lupica. Tuttavia, l'esperienza ottenuta in queste malattie renali indica che la scelta del farmaco deve essere personalizzata in base alle caratteristiche di ciascun paziente. Questo richiede ancor più ricerca in questo campo e la stretta collaborazione tra clinici e ricercatori che hanno una particolare competenza sul sistema del complemento.

Ulteriori studi attivi nel 2022:

- **Comprensione del ruolo patogenico delle anomalie genomiche e molecolari FH-FHR in DDD (deposit dense disease) e C3G.** I risultati ad oggi ottenuti supportano l'evidenza che C3G/IC-MPGN siano malattie geneticamente complesse, con un fenotipo influenzato dal delicato bilancio nel siero dei livelli di fattore H e delle proteine FH-*related*. Il progetto mira a caratterizzare funzionalmente i riarrangiamenti genomici CFHR, precedentemente identificati in pazienti con C3G. L'intento è quello di comprendere come tali difetti genetici influenzino il controllo del complemento e come gli inibitori possano correggere la disfunzione. Ulteriore obiettivo è quello di approfondire le conoscenze disponibili sul ruolo complesso che le proteine FHR svolgono nell'attivazione/regolazione del complemento e contribuire all'identificazione di nuovi bersagli molecolari.

- **BIOCRIST: BCX9930 in C3G.** La ditta BioCryst Pharmaceuticals ha sviluppato un nuovo inibitore orale del FD, BCX9930, per il trattamento delle malattie correlate al complemento. Si tratta di una piccola molecola in grado di inibire in maniera efficace e selettiva il FD. Presso il nostro laboratorio è stato messo a punto un saggio che consente di determinare in maniera specifica la formazione in vitro della C3 convertasi, utilizzando il siero quale fonte dei componenti del complemento. Questo saggio è stato utilizzato con successo per valutare l'efficacia di differenti concentrazioni di BCX9930 nel prevenire la formazione in vitro della C3 convertasi. Nell'ambito di questo progetto sono stati selezionati 12 pazienti affetti da C3G

afferenti al registro delle MPGN/C3G. I risultati ottenuti indicano che in presenza delle tre più alte concentrazioni dell'inibitore la formazione della C3 convertasi è efficacemente inibita.

- Test dei coniugati GalNac siRNA mirati al C3 in modelli murini di glomerulopatie (C3G).

Topi con deficit in omozigosi del fattore H (cfh^{-/-}) sviluppano una grave nefropatia proliferativa. L'attivazione incontrollata della via alternativa del complemento in questi animali si traduce in un consumo secondario di C3 circolante, nonché in una marcata deposizione di C3 a livello renale. I topi con deficit in eterozigosi per il fattore H (cfh^{+/-}) mostrano livelli inferiori di deplezione di C3 circolante ed una progressione della glomerulopatia più lenta rispetto ai topi in omozigosi, sviluppando una malattia più simile a quella dell'uomo. In un recente studio che prevedeva di inibire in topi cfh^{+/-} la sintesi di C3 nel fegato mediante small interfering RNA (siRNA), abbiamo dimostrato che il trattamento limitava l'attivazione del complemento, riduceva i depositi di C3 nel rene e rallentava lo sviluppo delle alterazioni dell'ultrastruttura glomerulare (Zanchi et al, 2022). In uno studio appena concluso e sottomesso per pubblicazione a *Molecular Immunology*, abbiamo dimostrato che il silenziamento della sintesi di fattore B nel fegato, una proteina chiave nell'attivazione della via alternativa del complemento, era in grado di limitare la deregolazione del complemento ed i depositi renali di C3 solo nei topi con deficit parziale di FH, mentre il trattamento non aveva alcun effetto in topi con deficit completo. Questi risultati sottolineano come il genotipo - oltre ai fattori acquisiti - possa fortemente influenzare la risposta ad uno specifico trattamento.

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 Sindrome Nefrosica Steroido-Resistente (SNSR) è una malattia renale rara che colpisce soprattutto i bambini ed i giovani adulti, caratterizzata da una mancata risposta ai corticosteroidi. Attualmente, non esiste una cura specifica per questa malattia che, entro 10 anni dalla diagnosi, obbliga il 50-70% circa delle persone affette a ricorrere alla dialisi. Si pensa che molte delle forme di SN resistenti agli steroidi ed agli altri immunosoppressori siano dovute ad alterazioni genetiche delle proteine del podocita. La maggior parte delle conoscenze attuali sulle cause genetiche di SNSR deriva dagli studi di forme familiari. Oltre alle forme isolate di SNSR, sono state descritte diverse sindromi caratterizzate da SNSR 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 SNSR 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 SNSR 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.

Gli studi condotti negli ultimi anni hanno dimostrato che la SNSR può essere causata da mutazioni in diversi geni che codificano per proteine importanti per la funzione e la struttura dei podociti. Nella maggior parte dei casi di SNSR, tuttavia, le cause rimangono sconosciute. 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 ed i campioni biologici di 726 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.

- **Studio dei meccanismi patogenetici determinanti la recidiva della Glomerulosclerosi focale e segmentale nel paziente trapiantato di rene (PARSEC).** Le SN primitive possono essere associate a diverse lesioni a livello renale, caratterizzate dalla fusione dei pedicelli dei podociti, visibili con la microscopia elettronica: nefropatia a lesioni minime, glomerulosclerosi focale e segmentale (GSFS) o proliferazione mesangiale diffusa. Tra queste varianti, la GSFS è la malattia con la prognosi peggiore, in quanto risponde alla terapia steroidea solo nel 30% dei casi. La GSFS è inoltre la lesione renale primaria con il più alto tasso di recidiva dopo trapianto renale, che tipicamente si verifica con proteinuria (spesso in range nefrosico) in circa il 30% dei pazienti trapiantati. La recidiva tende ad essere più frequente nei bambini che negli adulti. 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. 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 dello studio 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. Lo studio, iniziato nel 2017, ha arruolato 7 pazienti e si articola in due fasi: studio caso-controllo e studio di coorte prospettico.

d. Malattie rare senza diagnosi: UDNI. Il nostro Centro partecipa al progetto "*Sviluppo di un modello diagnostico efficace e sostenibile per l'inquadramento di pazienti orfani di diagnosi*", coordinato dalla Associazione Rete Italiana Salute dell'Età Evolutiva (Rete IDEA) presso l'Ospedale Pediatrico Bambino Gesù di Roma. Il progetto mira a validare e trasferire nella pratica clinica le nuove tecnologie di sequenziamento genomico, grazie alle attività combinate di strutture di comprovata esperienza nella genetica clinica e nella genomica disseminate sul territorio nazionale. La rete è disegnata per raggiungere capillarmente i pazienti al fine di ridurre l'odissea diagnostica. Alla rete clinica si affianca una rete di laboratori per la centralizzazione delle analisi genomiche in centri con documentata esperienza in grado di assicurare l'offerta delle nuove tecnologie nella pratica clinica mediando una corretta interpretazione dei dati genomici, anche attraverso approcci sperimentali di validazione funzionale, per il trasferimento

del risultato al letto del paziente. La peculiarità della diagnosi e della presa in carico dei pazienti pediatrici rispetto a quelli adulti viene declinata sviluppando due workflow paralleli. Nell'ambito del progetto, il nostro Centro coordina la rete dedicata ai pazienti adulti, entrata a far parte del network nel 2021, costituita da tre Unità Operative (IRCCS Istituto Mario Negri; Centro Multidisciplinare di Immunopatologia e Documentazione su Malattie Rare di Torino ed ISS) e focalizzata in particolare sulla caratterizzazione di pazienti con nefropatie di origine non chiarita.

Al dicembre 2022 sono stati valutati e discussi collegialmente 148 casi (pazienti/nuclei familiari) relativi a adulti con nefropatie non diagnosticate segnalati dalla UO di Torino (prof. Dario Roccatello) e dal nostro Centro. L'approfondimento multidisciplinare e l'avvio dei conseguenti accertamenti, comprendenti la conduzione di analisi genetiche con tecniche NGS e WES, hanno permesso di giungere alla definizione diagnostica in 46 casi. Il risultato presenta importanti implicazioni per quanto riguarda l'impostazione del follow-up ed il counseling genetico nei rispettivi nuclei familiari. La descrizione dei fenotipi associati ai geni coinvolti (es. PAX2, UMOD, COL4A5, SCL7A7) e l'allargamento delle indagini ai potenziali soggetti a rischio contribuiscono alla caratterizzazione di malattie rare sicuramente sotto diagnosticate, anche nell'ambito dell'assistenza condotta in centri specialistici.

Inoltre, sono state oggetto di studi condotti nel 2022 le seguenti malattie rare:

- Amiloidosi da gelsolina (Bollati et al, 2022)
- Amiloidosi da catene leggere delle immunoglobuline (Russo et al, 2022).

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), sui tumori pancreatici e sui tumori cerebrali con i seguenti obiettivi 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 formulazioni basate sulle più innovative nanotecnologie e/o combinazioni di farmaci o del loro impiego “off-label”, sia in modelli sperimentali che in clinica.
- Ottimizzare 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.

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, predittivo e diagnostico, al fine di migliorare la terapia per i pazienti. Nello specifico, 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.

- b.** Partendo da PDX stabilizzati in topi immunodeficienti e molto responsivi a platino e olaparib (inibitore della poli-ADP-ribosio polimerasi) si sono ottenuti dei modelli PDXs resistenti a questi farmaci attraverso cicli ripetuti di trattamento in vivo. La caratterizzazione di questi modelli ci ha permesso di capire come una modificazione del metabolismo tumorale sia associata allo sviluppo della resistenza al platino e ci ha permesso di contrastare la resistenza interferendo con il metabolismo con la metformina, uno tra i più prescritti farmaci antidiabetici orali. Questi dati sono importanti perché potenzialmente associati ad una rapida translatabilità clinica, considerato che la metformina è un farmaco approvato per l'uso clinico. Inoltre, questi dati hanno aperto la strada a nuovi studi in cui si andranno a testare combinazioni di diversi regimi dietetici con o senza metformina in associazione alla chemioterapia.
- c.** Studi analoghi su tumori resi resistenti a olaparib ci hanno permesso di capire come il ripristino della capacità di riparo nei tumori resistenti sia in parte responsabile dell'acquisizione della resistenza e sono in corso studi di combinazione con inibitori della riparazione del DNA (inibitori di ATR e inibitori di PolQ) per rallentare e/o superare la resistenza a olaparib.
- d.** Un gruppo di tumori ovarici particolarmente raro (di tipo mucinoso) è attivamente studiato a livello preclinico, caratterizzando nuovi modelli cellulari e PDX che ricapitolino le caratteristiche cliniche di questo sottotipo particolarmente aggressivo e per il quale non esistono terapie mirate.
- e.** 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) 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.

f. 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.

g. 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.

h. Per i sarcomi (liposarcomi mixoidi e leiomioidi) tumori rari caratterizzati da prognosi infausta se diagnosticati in fase avanzata. Si indagano i meccanismi molecolari e cellulari responsabili dell'aggressività di questi tumori. Per questo è necessario disporre di modelli adeguati per gli studi di ricerca preclinica. La nostra ricerca si focalizza sullo sviluppo di nuove linee cellulari, che possono essere mantenute in coltura in vitro per specifici studi molecolari e di modelli murini che permettono di indagare l'azione del farmaco sull'organismo. Tali modelli riproducono le caratteristiche biologiche e cliniche dei tumori umani in termini di caratteristiche fenotipiche e genotipiche.

i. 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.

l. Una importante attività è quella di identificare nuovi farmaci e/o trattamenti di combinazione mediante l'utilizzo di tecniche di "highthroughput" che permettono di studiare in maniera massiva l'effetto di farmaci su un sistema cellulare (mediante utilizzo di librerie con più di 2000 farmaci già approvati per tutte le patologie per utilizzo clinico). Inoltre, queste moderne tecniche permettono di identificare di nuovi bersagli terapeutici grazie all'utilizzo di librerie di siRNA e di librerie di CRISPR, che permettono di regolare negativamente o di eliminare la funzione di un singolo gene nella cellula. Questi studi sono fondamentali, ad esempio, per il riposizionamento di farmaci approvati per una patologia ma potenzialmente efficaci da soli o in combinazione anche nelle patologie oncologiche.

m. Creazione di nuovi modelli cellulari complessi, definiti organoidi, che rappresentano un ottimo intermedio tra i sistemi cellulari classici che crescono in 2D e i modelli animali. Questi organoidi, attualmente studiati per il tumore del polmone e per il tumore ovarico, crescono in 3 dimensioni e contengono, oltre alle cellule tumorali, anche cellule normali, come si ha nei tumori umani. Gli organoidi selezionati mantengono le stesse caratteristiche sia del tumore originario del paziente sia del tumore cresciuto in animali immunodeficienti, rappresentando quindi una utile alternativa ai modelli animali, almeno per alcuni studi di highthroughput.

n. 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.

o. 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 nei sarcomi e mesoteliomi, tumori rari con scarse opzioni terapeutiche. 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 disponibile presso il Dip. Ambiente e Salute. Queste metodiche permettono di studiare in

modelli di xenotrapianti l'efficacia di trattamenti che potrebbero migliorare la distribuzione del farmaco nei tessuti.

p. 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 e dei retinoidi per il trattamento dei liposarcomi mixoidi. L'acido retinoico è un farmaco antileucemico ed antitumorale 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 antitumorale 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 preclinici 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 antiproliferativo 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.

q. 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. In aggiunta e di estrema rilevanza ed importanza per i pazienti, sono gli studi di monitoraggio terapeutico di farmaci in campo emato-oncologico in favore di pazienti pediatriche ed in età adulta. 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.

r. Il Dipartimento, infine, coordina e supporta metodologicamente il Servizio Sanitario Nazionale e diverse Società o Associazioni Medico-Scientifiche nazionali e internazionali nella produzione di linee guida, dalla formulazione del quesito clinico alla pubblicazione delle raccomandazioni. Questa attività viene svolta adottando il metodo GRADE (*Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation*): una metodologia trasparente, analitica e condivisa dai principali enti internazionali preposti alla produzione di linee guida (WHO, NICE, ecc.). Dopo l'entrata in vigore della Legge Bianco/Gelli e dopo l'istituzione del Nuovo Sistema Nazionale Linee Guida (SNLG) dell'Istituto Superiore di Sanità, ha contribuito alla pubblicazione sul SNLG di più di 20 Linee Guida, attualmente riconosciute da Ministero della Salute come riferimento nazionale per la pratica clinica. Fanno parte delle attività core progetti di revisione sistematica e meta-analisi della letteratura medico-scientifica, oltre a lavori metodologici sui principali strumenti per la valutazione delle evidenze scientifiche.

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 preclinica 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.

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

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.

g. Lo studio **SECURE** sull'efficacia della polipillola, contenente i farmaci raccomandati per la prevenzione degli eventi cardiovascolari, nei pazienti con infarto miocardico si è concluso 31.10.2021. I risultati sono stati presentati al Congresso della Società Europea di Cardiologia (ESC), tenutosi a Barcellona a fine agosto 2022 e contemporaneamente pubblicati sul New England Journal of Medicine. Lo studio è stato finanziato all'interno dei bandi Horizon 2020 della Commissione Europea.

h. Lo studio **SKIM** in Medicina Generale ha lo scopo di facilitare la stima del rischio cardiovascolare nella popolazione generale. Sebbene lo screening sia raccomandato in tutti i soggetti di età superiore a 40 anni, tuttavia, ad oggi questo richiede un dispendio di tempo e di risorse e non sempre si dimostra efficace nel ridurre gli eventi cardiovascolari. Pertanto,

l'obiettivo dello studio SKIM è quello di sviluppare un algoritmo di pre-screening, non basato su misure di laboratorio, per ottimizzare i programmi di screening cardiovascolare nella popolazione generale e poter così concentrare le limitate risorse nella prevenzione dei soggetti ad alto rischio. Il target previsto di soggetti da includere è di 3000.

Il progetto è finanziato dal Ministero della Salute, nell'ambito del Bando Ricerca Finalizzata 2016.

i. Lo studio osservazionale **PAD&CAD** in medicina generale ha l'obiettivo di conoscere la prevalenza dell'arteriopatia periferica nei pazienti con coronaropatia, mediante la misurazione della pressione arteriosa alla caviglia e al braccio. Il rapporto ottenuto da queste due misure dà un valore che è predittivo della presenza di arteriopatia periferica. Lo studio ha anche l'obiettivo di descrivere: profilo clinico, fattori di rischio cardiovascolari, terapia e eventi clinici in questa popolazione. Il target previsto di soggetti da includere nello studio è di 1000 pazienti, che saranno seguiti per un anno. Il progetto è finanziato in parte e in maniera incondizionata da Bayer SpA Italia.

l. Il progetto **CV PREVITAL** si inserisce in uno studio più generale che coinvolge a livello nazionale i Medici di Medicina Generale (MMG) e i medici degli IRCCS della Rete Cardiovascolare. L'obiettivo dello studio è valutare l'efficacia di un intervento di prevenzione cardiovascolare attraverso l'uso di un approccio digitale (m-Health) rispetto a quello standard. Nello studio sono inclusi i soggetti in prevenzione primaria dotati di uno smartphone su cui possono scaricare l'applicazione di m-Health, disegnata ad hoc per il monitoraggio, l'educazione e la gestione dei più importanti fattori di rischio e per rilevare e modificare gli stili di vita scorretti (scorretta alimentazione, inattività fisica, fumo) attraverso messaggi periodici personalizzati. Il Centro cardiologico Monzino IRCCS è il coordinatore dello studio e l'Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri è il referente per il coordinamento MMG che partecipano al progetto. Lo studio è finanziato dal Ministero della Salute e nasce su indicazione del Parlamento.

m. Valutazione dei percorsi assistenziali di soggetti a rischio cardiovascolare (**EPIFARM**). La finalità principale di questo progetto, realizzato nell'ambito di una convenzione stipulata tra Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri IRCCS e la Regione Lombardia, è quella di analizzare i dati sulla prevalenza, incidenza ed evoluzione nella gestione e cura delle malattie cardiovascolari. A questo scopo viene analizzato il database della Regione Lombardia che contiene i dati di circa 10 milioni di residenti, per i quali si hanno a disposizione i dati sull'anagrafica, sulla farmaceutica, sui ricoveri, sul pronto soccorso, e sulle prestazioni ambulatoriali dal 2000 al 2022. Attraverso il cross-linkage di queste informazioni, in maniera anonimizzata, è possibile tracciare il profilo epidemiologico-assistenziale dei pazienti con malattie cardiovascolari conducendo delle analisi di real-world su un'ampia popolazione non selezionata, a differenza di quanto accade negli studi clinici randomizzati dove alcune categorie di pazienti sono escluse o sono poco rappresentate. Inoltre, avendo a disposizione diversi anni di osservazione è possibile seguire e monitorare nel tempo le popolazioni.

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 internazionali e ha favorito la partecipazione a progetti e reti a livello europeo. Sono stati sviluppati diversi numerosi modelli in silico per predire la tossicità di sostanze chimiche (ad esempio neurotossicità durante la fase dello sviluppo), sostanze anche di origine naturale presenti nei cosmetici e contaminanti alimentari. Si sono indagate inoltre proprietà ambientali ed ecotossicità di farmaci e fitofarmaci. I **modelli sviluppati** tramite metodologia QSAR o read-across sono **disponibili gratuitamente sul sito VEGA (www.vegahub.eu)**.

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 dell'esposizione al **fumo passivo**, agli aerosol della sigaretta elettronica e ai nuovi prodotti a tabacco riscaldato (quali IQOS), sia a livello nazionale (con la conduzione di indagini annuali sulla popolazione generale) che a livello europeo (con l'analisi di dati provenienti da progetti collaborativi, quali il progetto TackSHS). Inoltre, con la partecipazione alla seconda edizione del progetto collaborativo europeo Joint Action on Tobacco Control (JATC 2) si ha l'obiettivo di 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 DELLE MALATTIE RENALI

Da anni il nostro Istituto si è affermato come realtà di eccellenza per la ricerca sulle malattie renali croniche (MRC) che colpiscono l'8-10% della popolazione mondiale e causano la morte prematura di più di 1,2 milioni ogni anno. In Italia si stima che la prevalenza della MRC sia del 10% (circa 6 milioni di nefropatici), con coinvolgimento maggiore degli uomini rispetto alle donne (7,5% e 6,5%, rispettivamente). Infatti, il sesso è un determinante molto importante nella manifestazione e progressione delle MRC, nonché per il loro trattamento farmacologico (Benigni & Tomasoni, 2022; Perna et al., 2022). Tra i fattori di rischio della MRC vanno considerati il diabete, l'ipertensione e l'obesità, oltre ai tossici ambientali, ma, a sua volta, la MRC è causa di eventi cardiovascolari, anche fatali. Dati epidemiologici dell'*Organizzazione Mondiale della Sanità* (OMS) e dell'iniziativa *Global Burden of Diseases* (GBD) coordinata dall'*Institute of Health Metrics and Evaluation* (IHME) a Seattle, a cui ha contribuito anche il nostro Istituto, indicano che la prevalenza della MRC è in crescita a livello globale. Poiché la MRC rappresenta una causa importante di morbidità/mortalità nella popolazione generale e costituisce un problema di salute pubblica, l'OMS ne ha riconosciuto, insieme alle malattie cardiovascolari ed ai tumori, un ruolo significativo nell'ambito delle malattie non comunicabili che complessivamente sono in progressiva crescita negli ultimi decenni. La natura cronica della malattia comporta costi ingenti per la società, sia di tipo diretto che indiretto. Il trattamento della MRC allo stadio terminale comporta oneri elevati per il *Sistema Sanitario Nazionale* (SSN), con un costo diretto annuo di circa 40000 euro per paziente in dialisi, e costi stimati in 52000 Euro per il primo anno, e 15000 Euro per ogni anno successivo al primo in caso di trapianto. Per esempio, la possibilità di ritardare di almeno cinque anni la progressione del danno renale per il 10% dei soggetti con insufficienza renale moderata e l'entrata dei pazienti in dialisi, permetterebbe al SSN di risparmiare risorse per 2,5 miliardi di euro.

Il Ministero della Salute, con il *Piano Nazionale della Cronicità*, ha identificato tra le linee di intervento:

1. migliorare la conoscenza sulla fisiopatologia delle malattie croniche per interventi più efficaci e capaci di ridurre l'incidenza, ritardare l'insorgenza e la progressione, e ridurre il rischio di complicanze;
2. migliorare il coordinamento delle attività di ricerca attraverso la collaborazione interdisciplinare, sostenendo e programmando la formazione di giovani ricercatori.

Per quanto riguarda la MRC e l'insufficienza renale terminale, il Piano Nazionale ha identificato tre obiettivi generali:

1. identificare le persone a rischio di sviluppare malattie renali croniche;
2. ritardare l'insorgenza dell'insufficienza renale;
3. personalizzare le terapie sostitutive in fase predialitica, nonché quelle in fase dialitica.

Da più di trent'anni il nostro Istituto, attraverso i Dipartimenti di Medicina Renale, Medicina Molecolare, e Bioingegneria, e il Centro di Ricerche Cliniche per le Malattie Rare Aldo e Cele Daccò nella sede di Bergamo, si dedica allo studio delle cause e delle possibili nuove strategie

di prevenzione e cura di molte malattie renali, spesso rare, quali ad esempio: la nefropatia diabetica e non, e le nefropatie su base genetica; le malattie dovute a difetti acquisiti o genetici del sistema del complemento e del sistema immunitario più in generale ad interessamento sistemico oltre che renale; le complicanze del trapianto d'organo. Le cause di queste malattie sono molteplici e l'insorgenza e l'evoluzione di una malattia e delle complicanze che ad essa si possono associare è quasi sempre dovuta all'interazione tra fattori congeniti e fattori acquisiti. Scoprire e capire come tali fattori interagiscano tra di loro nel causare le malattie è uno degli obiettivi principali della ricerca del nuovo millennio. Nello specifico, i ricercatori del nostro Istituto sono impegnati nell'identificazione e nella caratterizzazione di:

1. meccanismi d'azione e mediatori responsabili della progressiva perdita di funzione renale nella nefropatia diabetica e non, e possibili nuovi trattamenti farmacologici o riqualifica di vecchi farmaci per nuove indicazioni sulla base dei meccanismi identificati;
2. strategie di intervento atte a prevenire l'insorgenza delle nefropatie croniche e loro complicanze;
3. interventi innovativi con farmaci biologici o terapie cellulari, per prevenire o per rallentare la progressione delle nefropatie croniche ed eventualmente ottenere la remissione/regressione del danno renale;
4. protocolli farmacologici innovativi di immunosoppressione e terapie cellulari per indurre la tolleranza immunologica al trapianto di rene nell'uomo.

a. Nefropatia diabetica. La nefropatia diabetica [(DN), oggi meglio definita come "malattia diabetica del rene" (DKD)] 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 costose, quali la dialisi ed il trapianto. Nasce quindi la necessità di identificare e caratterizzare nuovi meccanismi e mediatori responsabili della progressiva perdita della funzione renale nella nefropatia diabetica, per sviluppare nuove terapie farmacologiche o nuovi regimi di trattamento in grado di rallentarne o bloccarne la progressione.

Questo obiettivo è stato perseguito attraverso una serie di studi preclinici e clinici illustrati di seguito:

- Effetto renoprotettivo di empagliflozin in un modello di nefropatia da diabete di tipo 2.

Gli inibitori del cotrasportatore sodio-glucosio di tipo 2 (SGLT2i), oltre ad avere effetti ipoglicemizzanti, possono essere renoprotettivi. Tuttavia, i meccanismi alla base di questi effetti rimangono ancora da chiarire. Abbiamo quindi studiato quali componenti della barriera di filtrazione glomerulare fossero coinvolti negli effetti antiproteinurici e renoprotettivi di SGLT2i nel diabete. I risultati ottenuti nel 2020 hanno mostrato che in topi BTBR *ob/ob*, che sviluppano nefropatia diabetica di tipo 2, il trattamento con empagliflozin riduceva l'iperglicemia e limitava lo sviluppo dell'albuminuria. L'effetto antiproteinurico non era dovuto ad un'azione diretta del farmaco sui podociti o la membrana basale glomerulare. Empagliflozin era invece in grado di preservare l'ultrastruttura dell'endotelio glomerulare che era completamente sovrvertita nei topi BTBR *ob/ob*. Con nuovi esperimenti effettuati nel corso del 2021, abbiamo studiato i possibili meccanismi alla base della capacità di empagliflozin di preservare l'endotelio glomerulare. Abbiamo osservato nell'endotelio dei topi diabetici la presenza di caveole e diaframmi tra le

fenestrature, in associazione rispettivamente ad un'aumentata espressione di caveolina-1 ed alla comparsa di PV-1; proteine coinvolte nella regolazione della permeabilità endoteliale. Queste anomalie endoteliali erano limitate dal trattamento con empagliflozin. Tuttavia, 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 VEGF-A 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 (Locatelli et al., 2022).

- Antagonisti recettoriali della frazione C3a del complemento in un modello di danno renale nella malattia diabetica. Il presente progetto si propone di ampliare le nostre conoscenze sul ruolo patogenetico di C3a nel danno glomerulare, e in particolare a livello dei podociti, in un modello sperimentale di nefropatia diabetica. Abbiamo precedentemente dimostrato che topi BTBR *ob/ob* con DN avevano alti livelli glomerulari di C3a e del suo recettore C3aR, associati a disfunzione e perdita di podociti ed 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. I meccanismi attivati da C3aR alla base dei cambiamenti fenotipici dei podociti non sono stati ancora identificati completamente. A tale scopo, abbiamo analizzato il profilo trascrizionale di glomeruli isolati da topi sani, BTBR *ob/ob* trattati con veicolo o con un antagonista recettoriale di C3a, identificando i geni differenzialmente espressi nei diversi gruppi sperimentali. L'analisi trascrizionale mostrava che a livello glomerulare la condizione diabetica alterava numerosi geni che regolano la motilità, l'organizzazione del citoscheletro e l'interazione con la matrice extracellulare. I livelli di espressione di tali geni venivano normalizzati dal trattamento con l'antagonista recettoriale di C3a, suggerendo che tali processi biologici siano modulati dall'attivazione dell'asse C3a/C3aR. I dati di trascrittomica sono stati utili per identificare proteine chiave di queste vie intracellulari attivate da C3a, tra cui IQGAP, una proteina che regola la struttura e funzionalità del citoscheletro nel podocita, e la proteina adesiva fibronectina che si lega alla matrice extracellulare. Analogamente a quanto osservato a livello trascrizionale, il trattamento con antagonista recettoriale di C3a normalizzava l'aumento di IQGAP e fibronectina osservato nei podociti di animali con DN. Questi dati dimostrano l'importanza di bloccare l'attivazione di C3aR per ridurre il danno glomerulare in patologie dove si ha l'attivazione del complemento e forniscono il razionale per testare gli effetti protettivi del trattamento con l'antagonista recettoriale di C3a anche in altre patologie renali non diabetiche.

- La carenza di Sirtuina 3 (Sirt3) aggrava la malattia renale in risposta ad una dieta ad alto contenuto di grassi attraverso il danno mitocondriale. La sindrome metabolica risulta direttamente associata ad un aumento del rischio di sviluppare una MRC, ma i meccanismi alla base dell'evoluzione di questa patologia verso la nefropatia diabetica sono ancora da chiarire. Abbiamo studiato recentemente un modello murino di diabete indotto dalla somministrazione di una dieta ad alto contenuto di grassi (HFD) e privo della proteina Sirtuina 3 (Sirt3). Sirt3 regola la funzione mitocondriale ed è incaricata di ripristinare l'omeostasi cellulare durante i periodi di stress, svolgendo così un ruolo nella prevenzione della sindrome metabolica. La sua attività si riduce con l'età, in caso di eccesso di nutrienti e nel diabete, contribuendo ad

aumentare lo stress ossidativo mitocondriale. Abbiamo condotto uno studio in cui sono stati confrontati topi normali con deficit di Sirt3 alimentati con una dieta standard o ricca di grassi (HFD), capace di indurre la malattia diabetica. Nei topi normali alimentati con HFD, rispetto a quelli nutriti con dieta standard, si è osservato un aumento del peso corporeo, della glicemia e dei livelli di lipidi nel sangue, in associazione allo sviluppo di albuminuria nel tempo. Gli effetti negativi dell'alimentazione con HFD sono stati esacerbati nei topi carenti di Sirt3, che infatti presentavano livelli di albuminuria maggiori rispetto ai topi normali, un accumulo eccessivo di matrice extracellulare nel glomerulo e la presenza di cellule infiammatorie nel rene, in associazione ad un elevato accumulo di lipidi. È riconosciuto che nella DN la lesione della barriera di filtrazione glomerulare con perdita dei podociti sia una delle cause principali dello sviluppo di albuminuria e della progressione della malattia. Gli animali carenti della Sirt3, infatti, presentavano rarefazione delle cellule endoteliali ed un numero ridotto di podociti, rispetto al corrispondente gruppo di topi normali. Poiché Sirt3 è un importante regolatore dell'omeostasi cellulare, dell'integrità mitocondriale e del metabolismo energetico, la sua mancanza in risposta alla dieta HFD determinava un marcato aumento dell'espressione di alcune proteine coinvolte nell'infiammazione e nello stress ossidativo, e ciò era associato all'alterazione di alcune proteine mitocondriali coinvolte nelle funzioni metaboliche ed energetiche. I nostri risultati hanno confermato la carenza di Sirt3 come un fattore predisponente allo sviluppo di stress ossidativo, anomalie mitocondriali e alla progressione della malattia renale, suggerendo che la protezione dei mitocondri potrebbe essere un approccio terapeutico per prevenire il danno renale (Locatelli et al, 2022).

- Ruolo dell'ormone tiroideo nel rimodellamento patologico dei principali organi colpiti dal diabete incluso il rene. Nei pazienti diabetici, gli elevati livelli di glucosio, i radicali liberi dell'ossigeno e l'ipossia causano un forte stress cronico a livello cellulare che provoca una serie di complicanze a carico degli organi. Fra queste, la cardiomiopatia e la DN sono due fra le principali complicanze del diabete, responsabili di circa due terzi dei decessi nella popolazione diabetica. Alcuni nostri studi precedenti hanno dimostrato che il diabete induce una serie di alterazioni nelle vie metaboliche attivate dall'ormone tiroideo (TH) le quali, a loro volta, hanno un ruolo centrale nei cambiamenti strutturali, metabolici e funzionali nel rene (Benedetti et al, 2019; Mantzouratou et al, 2020). Infatti, l'attivazione del recettore TR α 1, ottenuta attraverso la somministrazione di triiodotironina (T3, la forma attiva del TH) in animali diabetici (ratti ZDF), ha dato risultati importanti riducendo in maniera significativa la glomerulosclerosi ed il danno a carico dei tubuli renali e diminuendo - seppur non significativamente - la proteinuria in ratti ZDF per tutta la durata dello studio. Il trattamento con T3 si è dimostrato efficace nel regredire/arrestare la riprogrammazione fetale, nel ridurre la fibrosi ed il danno, ma soprattutto l'ipertrofia a carico dei podociti, una condizione che è lentamente debilitante e biofisicamente/metabolicamente non efficiente per queste cellule (Lavecchia et al., 2022). 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 T3 sia 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 ed organoidi cardiaci e renali ottenuti dal differenziamento di cellule staminali pluripotenti indotte (iPSCs). Nel corso del 2022 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 cellule beta-

pancreatiche *in vivo* (nel nostro modello animale di ratti ZDF) ed *in vitro* su cellule umane. I risultati di questi studi indicano che il trattamento con T3 è in grado di migliorare la struttura e funzionalità delle isole pancreatiche, contrastare il de-differenziamento ed il trans-differenziamento, e ridurre l'apoptosi delle cellule beta-pancreatiche; tutti processi coinvolti nella perdita massiva di queste cellule. Infine, i risultati degli studi *in vitro* suggeriscono che T3 agisca legandosi al recettore TR α 1, poiché, bloccando il legame T3-TR α 1 con un inibitore specifico, gli effetti sopra elencati venivano completamente aboliti. I risultati degli studi più recenti sul rene, cuore e pancreas sono stati raccolti in un manoscritto e sottomessi ad una rivista scientifica internazionale.

- Applicazione di una tecnica innovativa di microscopia a scansione non convenzionale (SE-SEM) per la caratterizzazione delle alterazioni ultrastrutturali dello spazio sottopodocitario nella nefropatia diabetica sperimentale. La microscopia elettronica a trasmissione (TEM) rappresenta il gold standard per le diagnosi istopatologiche renali. Tuttavia, la complessa e lunga preparazione del campione, oltre alla possibilità di osservare solo piccole aree di campione, rappresenta un limite per i patologi. Per superare questi limiti, abbiamo sviluppato una nuova tecnica di microscopia elettronica a scansione chiamata SE-SEM, basata sull'acquisizione al microscopio elettronico a scansione (SEM) di elettroni secondari (SE) emessi da una sezione di tessuto posta su di un vetrino ricoperto di carbonio. Questo metodo consente di osservare il tessuto renale e di altri organi con una risoluzione simile a quella ottenuta con il TEM, ma su aree di interesse molto più grandi ed in tempi relativamente più brevi rispetto a quelli richiesti dai metodi di microscopia elettronica convenzionali. Questo approccio è stato utilizzato per studiare le alterazioni ultrastrutturali dello spazio sottopodocitario (SPS) nella DN sperimentale e nello specifico, in topi BTBR *ob/ob* con diabete di tipo 2. L'analisi SE-SEM ha rivelato che nei topi diabetici lo spazio sottopodocitario era significativamente più espanso in volume e copriva ampie aree della membrana basale glomerulare, formando estesi spazi tra il corpo del podocita e la membrana filtrante sottostante, rispetto agli animali di controllo. L'allargamento del SPS, aumentando le forze meccaniche esercitate sui podociti dalla filtrazione dell'acqua, induceva il distacco di queste cellule dalla membrana basale glomerulare compromettendo la funzione renale. I nostri risultati, oltre a documentare l'aumento del SPS nella DN, hanno dimostrato che questa nuova tecnica rappresenta un approccio prezioso per l'imaging del rene a livello ultrastrutturale, dato l'elevato potere risolutivo raggiunto e l'opportunità di osservare ampie aree di interesse. Ulteriori studi sono in corso per valutare, con la tecnica SE-SEM, l'effetto di farmaci renoprotettivi, come gli ACE inibitori, sul volume del SPS nella nefropatia diabetica (Conti et al, 2022).

- Meccanismi di progressione della nefropatia diabetica in clinica: focus sull'iperfiltrazione glomerulare e nuovi interventi farmacologici per ridurre gli effetti negativi. Il sangue circolante è filtrato attraverso la barriera del capillare glomerulare a formare un ultrafiltrato nello spazio di Bowman. Il volume del filtrato glomerulare per un certo tempo è definito "velocità di filtrazione glomerulare" (GFR), il cui valore è la somma del GFR delle singole unità elementari (i nefroni - SNGFR) di cui è composto il rene. Quando il SNGFR è aumentato nel contesto di un numero normale di nefroni funzionanti, le singole iperfiltrazioni glomerulari risultano in quella che viene definita iperfiltrazione "assoluta" nel rene. Questa condizione si verifica nel soggetto sano dopo un carico proteico, in pazienti obesi o con diabete. Quando il numero di nefroni funzionanti è ridotto (come nelle fasi più avanzate delle MRC, inclusa la DN), le singole iperfiltrazioni glomerulari mantengono inizialmente il GFR totale del rene entro il range di normalità o poco al di sotto dei valori considerati normali; una condizione

definita iperfiltrazione glomerulare “relativa”. In questo anno abbiamo preparato una *review* la quale, partendo anche dai risultati dei nostri studi clinici con intervento farmacologico, descrive i determinanti dell’iperfiltrazione glomerulare “assoluta” e “relativa” nelle condizioni di malattia e discute le modifiche dell’emodinamica a livello del singolo nefrone come predittori e fattori fisiopatologici che potrebbero contribuire al progressivo danno del tessuto renale ed al declino inesorabile della funzione renale. Abbiamo inoltre documentato che interventi sugli stili nutrizionali o farmacologici in grado di attenuare l’iperfiltrazione glomerulare possono tradursi in un effetto renoprotettivo a lungo termine. Per la nefropatia diabetica, questo è il caso dei farmaci che inibiscono il sistema renina-angiotensina-aldosterone (RAAS) ed i più recenti inibitori del SGLT2 che operano a livello del tubulo renale prossimale (Cortinovis et al, 2022).

- Meccanismi di perdita progressiva della funzione renale in pazienti diabetici e con nefropatia: approfondimento del trial DEMAND. Per questo studio, abbiamo tratto vantaggio da una coorte di pazienti con diabete di tipo 2, ipertesi non-proteinurici che avevano partecipato in precedenza al nostro trial *DElapril and MAnidipine for Nephroprotection in Diabetic nephropathy* (DEMAND, NCT00157586, <http://clinicaltrials.gov>). La possibilità di avere in contemporanea le misure del GFR e RPF ci ha permesso di calcolare, usando le equazioni di Gomez, le resistenze delle arteriole afferenti (Ra) ed efferenti (Re) glomerulari, nonché la pressione idraulica intraglomerulare al basale. Lo studio è stato condotto in 60 pazienti consecutivi. 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 del GFR in questi pazienti diabetici, ipertesi e non-proteinurici. Questi risultati possono contribuire a comprendere i meccanismi che mediano la progressione della MRC nelle sue fasi precoci, in particolare nei pazienti ipertesi con diabete di tipo 2. Inoltre, potrebbero fornire il razionale per studi interventistici farmacologici con l’obiettivo di prevenire le alterazioni precoci della parete vascolare arteriosa e le relative modifiche dell’emodinamica intraglomerulare nelle fasi iniziali della nefropatia diabetica, prima che si sviluppi la proteinuria conclamata (Carrara et al, 2022).

- Effetto reno-protettivo di un inibitore del cotrasportatore sodio-glucosio di tipo 2 nella nefropatia diabetica con proteinuria elevata. La DN, complicata da proteinuria in range nefrosico, si associa comunemente alla rapida perdita di funzione renale, aumentato rischio cardiovascolare e mortalità prematura. Gli SGLT2i agiscono principalmente a livello del tubulo prossimale renale ed in pazienti albuminurici si sono dimostrati avere effetti protettivi. Nel trial multicentrico multinazionale EMPA-REG OUTCOME, il trattamento con empagliflozin aveva ridotto del 39% gli outcomes renali clinici rilevanti in pazienti con diabete di tipo 2 e malattia cardiovascolare. In questo trial, i partecipanti erano stati seguiti per un tempo mediano di 3.1 anni. Poiché i criteri di inclusione prevedevano la presenza di albuminuria senza alcuna restrizione nei suoi valori, abbiamo pensato di studiare i pazienti arruolati nel trial con valori di albuminuria in range nefrosico al basale. Utilizzando i dati del trial EMPA-REG OUTCOME, abbiamo quindi condotto un’analisi *post-hoc* con l’obiettivo di valutare il possibile effetto di empagliflozin nel rallentare la progressione della malattia renale e migliorare gli outcomes clinici principali in pazienti con diabete di tipo 2 complicato dalla presenza di proteinuria nel range nefrosico. I risultati di questa analisi supportano l’ipotesi che empagliflozin possa offrire un’opzione terapeutica sicura ed efficace dal punto di vista renoprotettivo in pazienti con diabete di tipo 2 a rischio elevato di rapida perdita della funzione renale per la residua presenza di proteinuria nel range nefrosico, nonostante il trattamento conservativo ottimale (Ruggenenti et al, 2022).

- **Studio CRESO 2.** Nonostante approcci multi-farmacologici, i pazienti con diabete di tipo 2 continuano ad essere molto più a rischio di complicanze micro- e macro-vascolari, fatali e non fatali, rispetto alla popolazione non diabetica, richiamando l'attenzione sull'importanza di attuare interventi preventivi che, ottimizzando le cure, potrebbero ridurre i costi della malattia e delle sue complicanze. Un piccolo studio pilota, condotto dal nostro Istituto su pazienti con diabete di tipo 2, ha fornito la prova preliminare che la restrizione calorica può ridurre l'iperfiltrazione glomerulare e migliorare l'insulino-resistenza, contribuendo a prevenire le complicanze del diabete, quali la nefropatia, la retinopatia e le malattie cardiovascolari. Abbiamo quindi 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 MRC in 103 soggetti obesi affetti da diabete di tipo 2, già in trattamento con una terapia farmacologica ottimale. Inoltre, si è voluto valutare se la restrizione calorica, associata alla terapia farmacologica ottimale, fosse in grado di migliorare la filtrazione glomerulare (misurata mediante la clearance plasmatica dello ioexolo) e se questo effetto potesse tradursi nel rallentamento della perdita di funzione renale. I pazienti sono stati randomizzati a restrizione calorica del 25% (n=53) o dieta standard (n=50) e seguiti per 24 mesi. I risultati documentano che la restrizione calorica ha migliorato l'iperfiltrazione glomerulare nei primi mesi, effetto che si è poi tradotto nella prevenzione della progressiva riduzione della funzione renale (GFR) che normalmente si osserva in questa popolazione di pazienti. Inoltre, la restrizione calorica ha migliorato diversi fattori di rischio per eventi renali e cardiovascolari. In conclusione, lo studio dimostra che, in pazienti in sovrappeso/obesi e con diabete di tipo 2 (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 morbilità cardiovascolare che caratterizza questa popolazione (Ruggenti et al, 2022).

b. Malattie renali croniche proteinuriche non diabetiche. Escludendo la nefropatia diabetica, esistono varie malattie renali croniche caratterizzate da eccessiva perdita di proteine con le urine, le quali rappresentano una causa importante di morbilità/mortalità nella popolazione generale e costituiscono un problema di salute pubblica. Sono condizioni di persistente e progressivo deterioramento della funzione renale dovuta a cause immunologiche e non-immunologiche, e/o genetiche, per cui non sempre le terapie disponibili sono efficaci o lo sono solo in modo parziale.

- **Strategie per prevenire le malattie renali croniche dell'adulto già nella vita intrauterina.** Diversi studi suggeriscono che le malattie renali dell'adulto abbiano origine durante la vita intrauterina, periodo durante il quale viene determinato il numero di nefroni. Infatti, uno sviluppo embrionale alterato può portare ad avere alla nascita un basso numero di nefroni che si associa ad un maggiore rischio di sviluppare ipertensione e danno renale nell'età adulta. I nostri studi precedenti hanno evidenziato che la proteina mitocondriale Sirt 3 ha un ruolo importante nel determinare una corretta nefrogenesi e che, mediante regolazione epigenetica e metabolica, la Sirt3 influenza il numero finale di nefroni. Allo scopo di identificare terapie per normalizzare la nefrogenesi che abbiano come target la Sirt3, abbiamo messo a punto in topi *wild type* un modello di ridotto numero di nefroni indotto da una dieta a basso contenuto proteico durante la gestazione. In questo modello abbiamo osservato che in 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. Attraverso l'aggiunta alla dieta durante la gravidanza di

nicotinamide riboside (NR), un precursore del NAD⁺ da cui dipende l'attività della Sirt3, siamo stati in grado di aumentare il numero di nefroni e migliorare la struttura renale. In particolare, in animali ad un giorno di vita abbiamo osservato un miglioramento del numero di podociti e della densità dei capillari renali. Alla ricerca del meccanismo coinvolto nell'azione protettiva dell'NR, abbiamo osservato che tale molecola agiva migliorando l'attività mitocondriale e proteggendo le cellule dallo stress ossidativo. Questi risultati mostrano come sia possibile prevenire il ridotto numero di nefroni alla nascita agendo sulla Sirt3 durante la gestazione e forniscono una valida opzione terapeutica per limitare i danni renali da ridotto numero di nefroni nell'individuo adulto (Pezzotta et al, 2022).

- Una nuova strategia terapeutica per ridurre l'utilizzo di immunosoppressori nella glomerulonefrite pauci-immune associata ad ANCA. La glomerulonefrite (GN) pauci-immune è una malattia autoimmune rara associata allo sviluppo di anticorpi diretti contro il citoplasma dei neutrofili (ANCA). Gli ANCA hanno un ruolo centrale nel decorso della malattia: infatti, l'interazione di questi anticorpi con i neutrofili determina una complessa cascata di eventi capaci di causare importanti danni tissutali a livello dei capillari glomerulari. Da un punto di vista clinico, la malattia è caratterizzata da proteinuria e rapido declino della funzione renale, il quale, se non adeguatamente trattato, può essere causa di insufficienza renale terminale, rendendo necessaria la dialisi ed il trapianto d'organo e, nei casi più gravi, causando la morte del paziente. Attualmente il trattamento per questa malattia è costituito da farmaci immunosoppressori, farmaci antinfiammatori steroidei (FANS) o rituximab (anticorpo diretti contro le cellule B). La combinazione di questi farmaci non è del tutto efficace nel bloccare la progressione della malattia ed i gravi effetti collaterali. Inoltre, il fatto che alcuni pazienti non rispondano a questo tipo di trattamenti rende necessaria l'identificazione di nuove strategie terapeutiche. A tale scopo, nei nostri laboratori è stato messo a punto e caratterizzato un modello sperimentale animale che replica le principali caratteristiche della malattia umana. A questi animali è stata somministrata Angiotensina 1-7, una proteina circolante normalmente prodotta dal nostro organismo con importanti proprietà antinfiammatorie e renoprotettive. Questa molecola è stata data in aggiunta ad una dose ridotta di ciclofosfamide, l'immunosoppressore normalmente utilizzato nella terapia per ANCA-GN. Il trattamento con la combinazione dei due farmaci ha ridotto notevolmente la proteinuria rispetto alla terapia con il solo immunosoppressore e ha limitato drasticamente la formazione di alterazioni strutturali nel glomerulo. Inoltre, l'effetto sinergico della duplice terapia ha protetto dall'infiammazione, dal danno endoteliale e ha preservato la struttura della barriera di filtrazione glomerulare, dimostrando che la terapia combinata è in grado di fornire un ulteriore livello di renoprotezione. Questo studio dimostra che l'aggiunta di Angiotensina 1-7 alla terapia standard a dosi più basse è efficace nel bloccare la progressione della malattia e potrebbe essere un nuovo approccio clinico per il trattamento delle rare forme di glomerulonefriti autoimmuni, al fine di ridurre al minimo le dosi di immunosoppressori e gli effetti correlati ad essi associati (Cerullo et al, 2022).

- Studio ADAPT. Alcuni studi documentano che nuovi farmaci, inclusi gli SGLT2i a livello del tubulo prossimale, migliorano l'iperfiltrazione glomerulare e la proteinuria e rallentano la progressione della malattia renale in pazienti con diabete di tipo 2 con meccanismi apparentemente indipendenti dal miglioramento del controllo metabolico. Per quanto riguarda gli SGLT2i, gli effetti renoprotettivi sono stati dimostrati in pazienti con nefropatia diabetica, con profilo di sicurezza e tollerabilità eccellente. In particolare, diversamente dagli ACE inibitori e ARBs, gli SGLT2i non si sono associati ad un elevato rischio di iperpotassiemia; un evento avverso che può rappresentare un limite della terapia con inibitori del sistema renina-

angiotensina (RAS), soprattutto in pazienti con insufficienza renale severa. Ciò può avere implicazioni importanti nelle strategie di intervento per rallentare la progressione della malattia renale in pazienti a rischio elevato di insufficienza renale terminale per la presenza già di un quadro severo, nonché a maggiore rischio di iperpotassiemia da inibitori RAS. Per questo, l'Istituto ha disegnato e attivato uno studio (ADAPT) di fase 2b, prospettico, randomizzato, cross-over, in doppio cieco e controllato con placebo (ClinicalTrial.gov NCT04794517). L'obiettivo primario è valutare se l'inibitore del SGLT2 dapagliflozin migliori l'iperfiltrazione glomerulare e riduca la proteinuria rispetto al placebo in pazienti non diabetici con MRC e, in particolare, in quelli a più alto rischio di progressione verso l'insufficienza renale terminale a causa dell'insufficienza renale severa (stadio IV di MRC) e proteinuria (maggiore 0.5 g/24h). Per ciascun paziente, lo studio ha una durata complessiva di 24 settimane (inclusa la fase di screening).

- Studio dell'effetto combinato di inibitori RAAS e di inibitore SGLT2 sulla progressione della malattia in pazienti con malattia renale cronica proteinurica non-diabetica.

Nonostante le numerose complicanze in pazienti con MRC non diabetica, lo sviluppo di nuove terapie di comprovata efficacia rimane relativamente limitato. È stato suggerito che questo processo può essere facilitato considerando il beneficio dal punto di vista clinico di nuove terapie in termini di anni liberi dall'insufficienza renale terminale (necessità di trattamento dialitico o di trapianto di rene) o numero extra di anni di vita. In uno studio internazionale multicentrico, a cui ha partecipato anche l'Istituto Mario Negri, è stato stimato questo parametro (anni liberi dall'insufficienza renale terminale) in pazienti con MRC e macroalbuminuria (non diabetici) trattati con ACE inibitori (n=690 pazienti), con l'inibitore SGLT2 dapagliflozin (n=1398 pazienti), in rapporto a pazienti trattati con placebo. Utilizzando modelli matematici di analisi è stato possibile stimare l'effetto combinato delle terapie farmacologiche sul guadagno in termini di anni liberi dall'insufficienza renale terminale rispetto al trattamento con placebo. Lo studio ha dimostrato che combinando queste due terapie renoprotettive in pazienti con MRC e macroalbuminuria è possibile aumentare in modo sostanziale il numero di anni liberi dall'insufficienza renale terminale e quindi dal trattamento dialitico (Vart et al, 2022).

- Effetti acuti di trattamenti farmacologici sulla funzione renale in trial clinici di progressione delle nefropatie croniche proteinuriche.

Un problema rilevante nel disegnare e condurre trial clinici randomizzati in pazienti con MRC è che l'insufficienza renale normalmente si sviluppa nell'arco di un lungo periodo di tempo. Di conseguenza, studi clinici che valutano gli effetti sull'evento progressione verso l'insufficienza renale della MRC richiedono un lungo periodo di follow-up. Numerosi sono stati gli sforzi di ricercatori, autorità regolatorie e industrie farmaceutiche per identificare *end point* alternativi e solidi per l'insufficienza renale terminale, soprattutto per le fasi precoci di MRC e per trials di fase 2/3. Riduzioni acute del GFR si possono verificare all'inizio di trattamenti farmacologici che mirano a rallentare la progressione della MRC. Tuttavia, gli effetti acuti sul GFR possono complicare l'interpretazione degli effetti a lungo termine dei trattamenti stessi. 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 sul GFR in trial clinici randomizzati in cui era stata valutata la progressione della malattia renale e di verificare la consistenza di tali effetti in relazione ad alcune caratteristiche importanti di ciascuno studio (inclusi tipo di intervento, GFR ed 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 risultano maggiori per valori più elevati del 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 MRC (Neuen et al, 2022).

- **Studio FIND-CKD.** Il finerenone è un nuovo antagonista non steroideo del recettore dei mineralcorticoidi (aldosterone) con una maggiore selettività e capacità di legame con il recettore rispetto allo spironolactone ed esplerenone. Studi recenti a breve e lungo termine hanno dimostrato che il finerenone riduce l'albuminuria e rallenta il declino della funzione renale in pazienti con nefropatia diabetica. L'Istituto Mario Negri partecipa ad uno studio multicentrico internazionale di fase 3 che ha l'obiettivo di valutare l'efficacia, la sicurezza e la tollerabilità del finerenone, in aggiunta allo standard terapeutico con ACE inibitori o sartani sulla progressione della malattia renale in pazienti affetti da MRC non diabetica proteinurica. Si tratta di uno studio randomizzato in doppio cieco, controllato con placebo, per gruppi paralleli in soggetti di età superiori a 18 anni trattati per un periodo di 32 mesi. Sono previsti 750 partecipanti per gruppo di trattamento.

Nuove terapie per il trattamento della nefropatia da IgA. La nefropatia da IgA è la più comune malattia glomerulare cronica primitiva. Si manifesta clinicamente in modo variabile con ematuria macroscopica o microematuria, e proteinuria senza microematuria. La progressione della malattia può essere predetta da segni clinici (ipertensione, proteinuria, ridotta funzione renale) e dal quadro delle lesioni istologiche alla biopsia (grado di sclerosi glomerulare e danno tubulare interstiziale). Tra questi, i livelli più elevati e la maggior durata della proteinuria rappresentano i principali fattori di rischio di progressione della malattia. Il trattamento della nefropatia da IgA non è cambiato molto nel corso degli ultimi 30 anni ed ancora manca una terapia specifica, efficace ed approvata. La terapia raccomandata si basa principalmente sul blocco del sistema RAAS, con ACE inibitori o sartani per il controllo della pressione arteriosa o la riduzione della proteinuria. Tuttavia, anche con l'inibizione completa del sistema RAAS ed il controllo pressorio ottimale, persiste ancora un rischio sostanziale di progressione della malattia. L'Istituto Mario Negri partecipa ad alcuni trial clinici multicentrici internazionali in cui si esplora l'efficacia di terapie innovative nel rallentare la progressione della nefropatia da IgA, come indicato di seguito:

- **Studio TESTING.** In passato, la terapia con glucocorticoidi è stata utilizzata nella nefropatia da IgA, ma il suo ruolo rimane controverso sulla base dell'incertezza riguardo i benefici e i rischi. Lo studio TESTING (*Therapeutic Effects of Steroids in IgA Nephropathy Global*) è un trial multicentrico, in doppio cieco, randomizzato in 503 partecipanti con nefropatia da IgA. È stato disegnato con l'obiettivo di determinare gli effetti di metilprednisolone sul rischio di outcomes renali principali [endpoint composito di 40% di riduzione della velocità di filtrazione glomerulare stimata (eGFR), insufficienza renale terminale (dialisi, trapianto) o morte dovuta alla malattia renale] e gli eventuali eventi avversi legati al trattamento, in pazienti con nefropatia da IgA e proteinuria. I risultati hanno dimostrato che in pazienti con nefropatia da IgA ad alto rischio di progressione della malattia, rispetto al placebo, il trattamento con metilprednisolone per 6-9 mesi riduce significativamente il rischio dell'outcome composito. Tuttavia, si è osservato un aumento dell'incidenza di eventi avversi seri con la terapia steroidea, soprattutto con la dose più elevata di metilprednisolone (Lv et al, 2022).

- **Studio ALIGN.** Si tratta di uno studio di fase 3, randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo, di un trattamento con atrasentan in pazienti affetti da nefropatia da IgA e rischio di

perdita progressiva della funzione renale, nonostante la terapia con una dose massima tollerata e stabile di un inibitore del sistema RAAS. Saranno arruolati circa 320 soggetti. Atrasentan è un potente antagonista del recettore dell'endotelina A, che viene proposto in questo studio sulla base dell'effetto di riduzione della proteinuria e del rallentamento della progressione della malattia verso l'insufficienza renale terminale osservati in precedenza in pazienti con nefropatia diabetica (studio SONAR). L'obiettivo primario di ALIGN è di valutare l'effetto di atrasentan rispetto al placebo sui livelli di proteinuria dopo 24 settimane dall'inizio del trattamento. Tra gli obiettivi secondari si valuta l'effetto di atrasentan rispetto al placebo sul declino della funzione renale durante 2 anni di trattamento.

- **Studio PROTECT.** L'Istituto partecipa ad uno studio internazionale randomizzato, in doppio cieco per gruppi paralleli, con controllo attivo in pazienti con nefropatia da IgA, in precedenza trattati con la massima dose tollerata di un ACE inibitore e/o un sartano, con l'obiettivo di valutare l'efficacia, la sicurezza e la tollerabilità di sparsentan in questa MRC. Sparsentan è il primo di una classe di farmaci in cui si combina un antagonista del recettore di tipo 1 dell'angiotensina II ed un antagonista del recettore di tipo A dell'endotelina. Sulla base di studi preclinici e clinici in altre nefropatie, è stato ipotizzato che sparsentan (grazie alla sua duplice azione antagonista) possa avere un effetto favorevole in pazienti con nefropatia da IgA a rischio di progressione della malattia, nonostante in precedenza trattati con inibitori/bloccanti del sistema RAS alla massima dose tollerata. L'obiettivo primario dello studio è di valutare l'efficacia di sparsentan nel ridurre la proteinuria e preservare la funzione renale, rispetto a quella offerta dal trattamento con il solo sartano (irbersartan). Sono previsti 140 pazienti per gruppo, trattati secondo la randomizzazione e seguiti per 110 settimane (28 mesi). Lo studio è in corso, con il contributo anche del nostro Istituto.

- **Studio APPLAUSE.** Studi recenti sperimentali e dati di genetica suggeriscono un ruolo importante dell'attivazione del complemento nella patogenesi e progressione della malattia la nefropatia da IgA. Nel 75-90% dei pazienti con nefropatia da IgA è attivata la via alternativa del complemento e nel 17-25% la via della lectina. Al contrario, in questi pazienti non sembra coinvolta la via classica di attivazione del complemento. Queste osservazioni hanno rappresentato il razionale per disegnare lo studio APPLAUSE, un trial multicentrico, randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo, a gruppi paralleli di fase 3 per valutare l'efficacia e la sicurezza di iptacopan, un inibitore del Fattore B della via alternativa del complemento, in pazienti affetti da nefropatia da IgA primitiva. Questo trattamento è in aggiunta alla dose massima tollerata di ACE inibitore o sartano. L'obiettivo primario è di dimostrare la superiorità di iptacopan rispetto al placebo nel ridurre la proteinuria dopo 9 mesi dall'inizio del trattamento e nel rallentare la progressione della malattia nel corso di 24 mesi. Lo studio è nella fase di arruolamento dei 450 pazienti con nefropatia da IgA previsti dalla stima del campione.

c. 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 ad una maggiore selettività e minore tossicità rispetto alle terapie immunosoppressive tradizionali. In particolare, gli studi condotti hanno permesso di supportare l'impiego di un anticorpo monoclonale anti CD20 (rituximab) che specificamente distrugge le cellule B coinvolte nei meccanismi che

portano alla produzione di autoanticorpi che causano la nefropatia membranosa quale trattamento in grado di indurre la 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.

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 dai linfociti B ed il trattamento con farmaci che mirano ad eliminare questo tipo di cellule (ad esempio, il 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 funzionalità renale fino alla necessità di iniziare la dialisi o ricorrere ad un trapianto di rene nell'arco di pochi anni.

-Studio RESTORE. Nel 2022 si è concluso uno studio retrospettivo atto a valutare l'efficacia di un anticorpo monoclonale antiCD20 di seconda generazione (ofatumumab) completamente umano in grado di indurre un effetto citolitico sulle cellule B e prevenire la produzione di autoanticorpi nei pazienti in cui il trattamento con rituximab si è dimostrato inefficace (pazienti rituximab-resistenti) o non più somministrabile perché causa di reazioni allergiche anche gravi (pazienti rituximab-intolleranti). Le analisi dei dati hanno dimostrato che una singola dose di 50-300 mg di ofatumumab era in grado di ottenere una remissione completa della sindrome nefrosica in tutti e sette i pazienti che si erano mostrati intolleranti al rituximab senza indurre reazioni avverse clinicamente rilevanti molto probabilmente proprio in virtù della sua natura completamente umana che ha evitato la possibilità di reazioni crociate tra anticorpi preformati contro la parte murina del rituximab e l'ofatumumab. Per contro, solo tre dei 10 pazienti che erano resistenti al rituximab ma non intolleranti sono andati in remissione con ofatumumab. Questi risultati sono stati presentati al meeting annuale dell'American Society of Nephrology e saranno a breve oggetto di pubblicazione scientifica su una rivista internazionale di Nefrologia.

- Studio ORION. Ripetute infusioni di rituximab possono provocare reazioni di ipersensibilità per cui questi pazienti non possono più essere trattati. Indipendentemente dalla risposta al trattamento, i pazienti intolleranti al rituximab necessitano di una terapia alternativa efficace e sicura che riduca il rischio di ipersensibilità. D'altro canto, una percentuale significativa di pazienti che non traggono beneficio da rituximab potrebbero rispondere ad altri anticorpi anti-CD20. Una piccola percentuale di pazienti infine beneficia del trattamento con rituximab, ma ha frequenti recidive e presenta quindi quasi costantemente una proteinuria in range nefrosico (pazienti dipendenti da rituximab). Abbiamo quindi disegnato ed attivato uno studio pilota multicentrico (studio ORION) per valutare l'efficacia di obinutuzumab (un anticorpo monoclonale innovativo anti CD-20 di seconda generazione) nell'indurre remissione della malattia in pazienti con NM intolleranti, resistenti o dipendenti dalla terapia con rituximab. Saranno arruolati nello studio soggetti adulti con NM primaria e proteinuria in range nefrosico, nonostante la terapia con inibitori del sistema RAS. Il farmaco è somministrato con 4 infusioni (3 dosi) nell'arco di un mese.

- Studio MONET. Per i pazienti con NM resistenti o dipendenti dalla terapia con rituximab è necessario individuare nuove opzioni terapeutiche. È probabile che in questi pazienti la

produzione di autoanticorpi sia sostenuta da meccanismi indipendenti dalle cellule B che esprimono l'antigene CD20. Recentemente è stato dimostrato che le plasmacellule del midollo osseo CD-19 negative, le quali esprimono CD38, sono numerose nel tessuto cronicamente infiammato e secernono anticorpi. Pertanto, gli anticorpi anti-CD38 potrebbero rappresentare un nuovo approccio terapeutico per il trattamento di pazienti con NM. Abbiamo disegnato uno studio in aperto, di fase 2 (studio MONET), in cui pazienti con NM sono trattati con MOR202 (un anticorpo monoclonale umano ricombinante anti-CD38) per un totale di 9 somministrazioni in 24 settimane. I pazienti saranno seguiti per 24 mesi a partire dalla prima somministrazione del farmaco. L'obiettivo primario dello studio è valutare l'efficacia di MOR202 nel ridurre e/o eliminare l'escrezione urinaria di proteine in pazienti affetti da NM con proteinuria nel range nefrosico resistenti o dipendenti dal trattamento con anticorpi anti-CD20. Ad oggi sono stati arruolati 9 pazienti dei 10 previsti.

- **Studio BLADE.** Nella sindrome nefrosica idiopatica, 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. L'obiettivo di questo studio è quello di valutare il ruolo di specifiche sottopopolazioni di linfociti B nella patogenesi della SN idiopatica (sia in età pediatrica che in forma adulta) e di comprendere se il monitoraggio costante delle sottopopolazioni linfocitarie delle cellule B possa essere utile nel predire l'insorgenza di una recidiva della SN in soggetti che sono stati trattati con anticorpi anti-CD20.

- **Studio PEPTIDE.** Questo studio consiste in un monitoraggio delle cellule B anti-PLA2R autoreattive e dei leucociti circolanti nella NM per identificare predittori di *outcome* e studiare i meccanismi patogenetici. Obiettivi primari dello studio sono: i) valutare la presenza di cellule B auto-reattive anti-PLA2R in pazienti con NM al basale e durante la ricostituzione delle cellule B dopo trattamento con anticorpi anti-cellule B; ii) determinare se la presenza di sottopopolazioni di cellule B anti-PLA2R è predittiva della risposta al trattamento. Si vuole inoltre valutare l'eventuale presenza di una alterazione specifica nei leucociti circolanti dei pazienti con NM e stabilire se una particolare popolazione leucocitaria al basale o durante il periodo di monitoraggio condiziona la risposta al trattamento con anticorpi anti-cellule B.

d. Malattie renali croniche proteinuriche e deficit cognitivo. Recenti evidenze suggeriscono un ruolo potenziale dell'aumentata escrezione di albumina nelle urine (micro e/o macroalbuminuria) nello sviluppo di deficit cognitivo lieve o demenza. Studi epidemiologici in diverse popolazioni hanno infatti dimostrato che la presenza di micro/macro-albuminuria si associa ad un rischio relativo elevato di deficit cognitivo o demenza, sia in analisi "cross-sectional" che in studi di follow-up a lungo termine. Tuttavia, i meccanismi fisiopatologici dell'effetto dell'albuminuria sulla funzione cognitiva sono stati finora poco studiati. L'Istituto Mario Negri è parte di un progetto europeo COST Action, CONNECT Action (*Cognitive Decline in Nephro-Neurology European Cooperative Target*). In questo ambito abbiamo coordinato e

contribuito alla stesura di un articolo di revisione della letteratura che riassume le evidenze del rapporto tra albuminuria e deficit cognitivo/demenza, sottolinea le lacune delle nostre conoscenze attuali e suggerisce interventi per superarle (Bikbov et al, 2022). Le nostre raccomandazioni per ricerche future in questo campo serviranno a pianificare trial clinici che affrontino i quesiti aperti descritti nell'articolo, con l'obiettivo finale di migliorare la qualità di vita di pazienti con MRC. Come parte dell'attività di CONNECT, l'Istituto Mario Negri ha inoltre contribuito alla discussione e stesura di un articolo che identifica il neuropeptide Y quale fattore di rischio per la malattia cardio-renale ed il deficit cognitivo in pazienti con MRC (Zoccali et al, 2022).

e. Malattie renali croniche non proteinuriche

Malattia renale policistica. La malattia renale policistica (ADPKD – Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease) è caratterizzata dalla formazione di cisti nel parenchima renale (ed epatico) che ne riducono progressivamente la funzione. I farmaci che potrebbero prevenire la formazione e l'aumento di dimensioni delle cisti sono oggetto di studio.

- **Studio TOOL.** Recentemente abbiamo avviato un nuovo studio di fase 2 in pazienti con ADPKD (studio TOOL) per valutare l'effetto a breve termine della somministrazione di tolvaptan (antagonista della vasopressina) e placebo, rispetto alla combinazione di tolvaptan e octreotide-LAR (analogo della somatostatina a lento rilascio), in pazienti affetti da malattia policistica del rene con funzione renale normale o iperfiltranti. I risultati in modelli sperimentali di ADPKD suggeriscono che anche i pazienti affetti da ADPKD potrebbero beneficiare del trattamento combinato dei due farmaci. Per verificare l'ipotesi che tolvaptan e octreotide-LAR abbiano un effetto sinergico, abbiamo disegnato lo studio TOOL. Si tratta di 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 o con iperfiltrazione. Lo studio ha previsto l'arruolamento di 20 pazienti e si è concluso nel corso del 2022.

- **Studio CYSTic-QoL.** L'impatto di ADPKD sulla qualità di vita dei pazienti affetti non è stato esplorato in modo completo. CYSTic-QoL è uno studio osservazionale disegnato per valutare la qualità di vita in pazienti adulti con ADPKD in Europa, con una velocità di eGFR ≥ 30 ml/min/1.73m², a cui ha contribuito l'Istituto Mario Negri. Per questo studio sono stati reclutati 465 pazienti da sei centri europei. I risultati dello studio documentano quindi che i pazienti con ADPKD presentano in generale una riduzione della qualità di vita per molti parametri considerati dai questionari standard validati utilizzati, accentuati, in modo particolare, dalla presenza di dolore cronico ai fianchi (Winterbottom et al. 2022).

Calcolosi renale. La calcolosi renale di calcio ossalato è una malattia relativamente comune. Senza una terapia farmacologica specifica la recidiva è molto alta, con un'incidenza annuale del 15-20% che a 5 anni arriva anche al 50%. La formazione di un nuovo calcolo è un processo complesso che richiede formazione, crescita ed aggregazione di cristalli che interagiscono con una matrice organica non cristallina. La patogenesi è multifattoriale ed include: un'aumentata

escrezione di sali urinari che inducono la litogenesi (calcio, ossalato, fosfato, acido urico, sodio), una ridotta escrezione urinaria di inibitori della cristallizzazione (esempio citrato e magnesio) e modificazioni del pH urinario (un pH urinario acido riduce la solubilità dell'acido urico mentre un aumento del pH facilita la precipitazione del calcio fosfato). Sebbene i fattori genetici giochino un ruolo importante nello sviluppo di nefrolitiasi, i fattori ambientali, quali la dieta, incrementano il rischio di formare calcoli.

- **Studio LIMONE.** L'Istituto ha disegnato e condotto lo studio LIMONE, un trial prospettico, randomizzato, aperto, con endpoint cieco, in pazienti con nefrolitiasi recidivante idiopatica di calcio ossalato. L'obiettivo principale è stato valutare se il succo di limone (60 ml, 2 volte al giorno), associato alla dieta standard, potesse ridurre in questi pazienti, rispetto alle sole raccomandazioni dietetiche, il rischio di formazione di nuovi calcoli renali. Lo studio ha incluso 203 pazienti con nefrolitiasi recidivante seguiti per 2 anni. I risultati suggeriscono che la somministrazione giornaliera di succo di limone fresco, in aggiunta alla dieta standard con contenuto normale di calcio, ma ridotta quantità di sodio e proteine animali, esercita un certo effetto protettivo sulla recidiva di calcolosi, rispetto a quanto osservato con la stessa dieta standard senza l'aggiunta del succo di limone. Tuttavia, l'effetto del trattamento era molto attenuato dalla progressiva riduzione dell'aderenza dei pazienti all'assunzione del succo di limone; per questo, i dati non sono sufficientemente robusti da raccomandare la supplementazione con succo di limone nella pratica clinica di tutti i giorni. Ciò nonostante, essi forniscono nuove informazioni utili per disegnare strategie più efficaci a migliorare l'aderenza al trattamento in futuri studi clinici in pazienti con nefrolitiasi recidivante di calcio ossalato (Ruggenti et al, 2022).

f. Nuovi approcci di analisi di immagini nelle malattie renali e nella risposta alla terapia.

Grazie al contributo del Dipartimento di Bioingegneria, l'Istituto ha proseguito i propri studi focalizzati a migliorare la diagnostica per immagini delle malattie renali, identificare predittori di progressione di queste malattie e la risposta ai trattamenti farmacologici. Questo è stato possibile attraverso tecnologie avanzate di risonanza magnetica (RM) che permettono analisi di microstrutture tissutali e grazie al contributo di nuove tecniche di intelligenza artificiale che hanno consentito di automatizzare le procedure di analisi delle immagini di RM applicata ai reni (Caroli A, 2022).

Di seguito sono presi in esame gli studi in corso sui nuovi approcci preclinici e clinici di analisi di immagini nelle malattie renali:

- **Segmentazione automatica delle immagini di reni in modelli preclinici di malattia policistica del rene (ADPKD).** Il Dipartimento di Bioingegneria, in collaborazione con il Politecnico di Milano e l'Università di Bergamo, ha proposto e valutato un nuovo approccio definito "*U-NET architecture*" per confrontare le diverse segmentazioni di reni e cisti sulle immagini ottenute in micro-CT con contrasto da ratti normali o affetti da ADPKD. I risultati dello studio hanno dimostrato che il metodo automatico di segmentazione ideato e proposto in questo modello è valido ed immediatamente applicabile per segmentare cisti e reni da immagini di tomografia computerizzata (micro-CT). Questo approccio permette inoltre di ottenere direttamente il valore del rapporto tra volume delle cisti e quello totale dei reni (Rombolotti et al, 2022).

- **Studio RESPECT.** Rispetto all'analisi istologica di un frammento bioptico, la RM è una tecnica non invasiva che permette di caratterizzare l'intero rene con elevata risoluzione spaziale. Nonostante alcuni studi in singoli centri abbiano dimostrato la fattibilità della RM renale e la sua potenzialità nel rispondere a numerosi importanti quesiti clinici, le metodologie impiegate sono diverse nei vari studi, rendendo difficile un confronto affidabile dei risultati. Il Dipartimento di Bioingegneria coordina lo studio RESPECT (*Renal MRI Standardization to improve personalized management of CKD patients*) (ERAPerMed Joint Call 2020 – Project number 2020-326) disegnato in collaborazione con altri centri europei. Si tratta di uno studio clinico, esplorativo, multicentrico per valutare la ripetibilità, la riproducibilità, l'accettabilità e la validità clinica della RM renale multiparametrica, che vede il coinvolgimento di Università in Italia, Spagna, Danimarca, Germania, oltre che l'Istituto. Nel corso del 2022 il protocollo dello studio è stato approvato dai Comitati Etici di riferimento.

- **Sviluppo e validazione di un nuovo metodo automatico per la quantificazione del volume delle cisti renali basato sulle immagini di risonanza magnetica pesate in diffusione (DWI-MRI).** Nella ADPKD il volume dei reni (TKV) è facilmente quantificabile, mentre quello delle cisti renali è difficoltoso, dispendioso e operatore-dipendente. Il Dipartimento di Bioingegneria ha disegnato un progetto che ha l'obiettivo principale di sviluppare e validare nuovi metodi automatici per la quantificazione del volume delle cisti renali, in modo tale da rendere quest'ultimo un biomcatore facilmente accessibile e riproducibile, da poter utilizzare per il monitoraggio e una migliore gestione della malattia renale policistica. Nel 2022 è stato sviluppato un metodo automatico per la quantificazione del volume delle cisti renali basato su immagini di risonanza pesate in diffusione (DWI). Il nuovo metodo è stato messo a confronto con il metodo semi-automatico di riferimento basato su immagini RM pesate in T2 (molto dispendioso in termini di tempo), mostrando una buona accuratezza ed un grosso beneficio in termini di tempo richiesto. L'analisi delle immagini DWI ha permesso inoltre di caratterizzare il tessuto non cistico, mostrandone le differenze rispetto al tessuto renale normale.

- **Sviluppo di tecniche di intelligenza artificiale per predire il declino della funzione renale in pazienti ADPKD.** In pazienti ADPKD, il tracciamento manuale dei reni sulle immagini diagnostiche, necessario per calcolare il TKV, è molto dispendioso in termini di tempo ed è soggetto alla variabilità intra- e inter-operatore. Nel corso degli anni sono stati sviluppati diversi modelli che consentono di predire il declino della funzione renale nell'ADPKD sulla base del TKV, dell'eGFR e dell'età del paziente. Il Dipartimento di Bioingegneria, in collaborazione col "*Mannheim Institute for Intelligent System in Medicine dell'Heidelberg University*" (in Germania), ha elaborato un progetto con l'obiettivo di sviluppare algoritmi di intelligenza artificiale che permettano di quantificare in automatico e con accuratezza il TKV, migliorando la predizione della perdita di funzione renale nel tempo. Nel 2022 è stato sviluppato, mediante tecniche di Deep Learning, un tool che consente di segmentare automaticamente il volume renale, estrarre direttamente le caratteristiche più informative (dette "*features*") dalle immagini RM renali acquisite al basale ed utilizzarle insieme ad età e eGFR per predire lo stadio di malattia renale cronica e la perdita di funzione renale nel tempo. La validazione preliminare del nuovo tool, effettuata utilizzando un dataset longitudinale pubblico, ne ha mostrato l'ottima accuratezza.

- **Quantificazione automatica del volume interstiziale peritubulare su immagini di istologia renale mediante tecniche di intelligenza artificiale.** Nella pratica clinica, il volume

interstiziale peritubulare renale viene valutato dal patologo in modo qualitativo sulle immagini istologiche di biopsie renali. Nell'ambito di precedenti studi clinici volti ad esplorare l'associazione tra biomarcatori di RM e variabili istologiche, abbiamo sviluppato un metodo di quantificazione del volume interstiziale peritubulare basato su tecniche di stereologia che, per quanto consenta una quantificazione accurata, è molto dispendioso in termini di tempo ed è soggetto alla variabilità intra- e inter-operatore. Per questo, in collaborazione con il Dipartimento di Elettronica, Informazione e Bioingegneria del Politecnico di Milano, abbiamo disegnato un progetto con l'obiettivo di sviluppare un tool di intelligenza artificiale che consenta di quantificare in modo automatico il volume interstiziale peritubulare su immagini istologiche di biopsie renali. Mediante tecniche di Deep Learning e sulla base di quantificazioni manuali del volume interstiziale peritubulare utilizzate come gold standard, è stato sviluppato un tool che consente di classificare ciascun voxel dell'immagine istologica (glomerulo/tubulo/volume interstiziale/altro) e quindi quantificare in modo automatico tale volume. Il tool è attualmente in fase di validazione e testing su immagini istologiche tratte da biopsie di pazienti con patologie varie.

g. Studi in pazienti che necessitano terapia emodialitica cronica. L'emodialisi è il trattamento più comune per pazienti che sviluppano insufficienza renale terminale in conseguenza della loro malattia renale cronica. Il trattamento emodialitico richiede inizialmente la confezione di una fistola arterovenosa (FAV), ma il suo tasso di fallimento è ancora elevato.

- Studio AVF.SIM: uso di un sistema di simulazione per pianificare la FAV nella pratica clinica. Vi è consenso generale che un'attenta pianificazione della FAV possa essere di cruciale importanza. L'esame fisico del braccio del paziente, la mappatura dei vasi e l'ecocolordoppler della FAV non permettono di fornire un'indicazione al chirurgo sul risultato reale dell'anastomosi in termini di flusso di sangue previsto a seguito della maturazione; il processo di rimodellamento dell'accesso vascolare che normalmente avviene nei primi quaranta giorni dopo la chirurgia. Abbiamo precedentemente riportato che un modello computazionale per la previsione del flusso nella FAV è stato validato in uno studio clinico prospettico, osservazionale e multicentrico. Sulla base di questi risultati incoraggianti, il modello è stato inserito in un innovativo sistema di simulazione (AVF.SIM) che comprende la raccolta dati, lo svolgimento della simulazione fluidodinamica e la restituzione dei risultati al chirurgo. L'obiettivo principale dello studio multicentrico internazionale AVF.SIM è quello di determinare la possibilità di usare il sistema AVF.SIM nella routine clinica, valutandone l'accettabilità da parte dei medici. L'obiettivo secondario è quello di determinare il potere predittivo del modello computazionale, confrontando i valori di flusso predetti con i valori misurati con ecocolordoppler. alla maturazione della FAV e di 180 pazienti per quanto riguarda la pervietà a lungo termine. I risultati indicano che l'uso del sistema AVF.SIM permette di predire con buona accuratezza il volume di flusso di sangue che si ottiene dopo la maturazione della FAV, considerando il tipo di anastomosi e la sua posizione nel braccio (Bozzetto et al, 2022).

- Studio RESHAPE: uso del dispositivo VasQ per la creazione delle fistole arterovenose. I meccanismi che provocano la formazione di stenosi nella FAV sono ancora poco chiari. Studi di fluidodinamica computazionale condotti dal Dipartimento di Bioingegneria hanno evidenziato la presenza di flusso disturbato nel lato venoso della FAV. Partendo da evidenze sperimentali, l'azienda Laminare Medical Technologies ha realizzato il dispositivo VasQ, progettato per regolarizzare il flusso del sangue e favorire un moto più stabile nella FAV. Tuttavia, gli effetti benefici del dispositivo VasQ sulle condizioni emodinamiche nella FAV non sono ancora stati

dimostrati. Un'analisi dettagliata dei cambiamenti morfologici legati all'adattamento dei vasi e dei cambiamenti emodinamici nell'accesso vascolare può essere ottenuta combinando tecniche di risonanza senza mezzo di contrasto e tecniche di fluidodinamica computazionale, con un metodo che è stato recentemente ottimizzato dal nostro gruppo di ricerca. Utilizzando questo approccio, in collaborazione con l'Ospedale Papa Giovanni XXIII di Bergamo, abbiamo completato il primo studio longitudinale su un paziente che ha sviluppato una stenosi nell'accesso vascolare ad un anno e mezzo dalla sua creazione. L'analisi combinata dei cambiamenti emodinamici e del rimodellamento vascolare in 5 istanti temporali ha fornito evidenze preliminari di un meccanismo protettivo nel quale la vena si restringe per favorire la regolarizzazione del flusso di sangue al suo interno. Infine, i risultati di questa ricerca sono stati inclusi in un manoscritto che verrà sottoposto ad una rivista scientifica internazionale. Sulla base di questi risultati abbiamo disegnato e condotto uno studio pilota, monocentrico, a gruppi paralleli, longitudinale, prospettico in cui sono state confrontate FAV create usando il dispositivo VasQ e quelle confezionate con chirurgia tradizionale. I risultati hanno dimostrato la fattibilità di caratterizzare le modifiche morfologiche ed emodinamiche che si verificano nel tempo in FAV create usando il dispositivo VasQ ed hanno fornito evidenze preliminari dei suoi potenziali effetti emodinamici favorevoli (Bozzetto et al, 2022).

- Studio dell'interazione fluido-struttura nella fistola arterovenosa per emodialisi. L'obiettivo di questo progetto è studiare la presenza di vibrazioni nella parete della FAV e di comprendere il loro possibile coinvolgimento nello sviluppo di stenosi. In collaborazione con il gruppo norvegese Simula Research Laboratory di Oslo, il Dipartimento di Bioingegneria ha rivisitato l'ipotesi che le vibrazioni possano avere un ruolo nello sviluppo di stenosi. Abbiamo sviluppato ed applicato tecniche sofisticate di simulazione in fluido-struttura, che costituiscono un importante passo avanti rispetto alle tecniche convenzionali di fluidodinamica computazionale, poiché permettono di modellare anche l'elasticità dei vasi e dimostrato che la parete della vena vibra con frequenze elevate. Inoltre, evidenze preliminari mostrano che le vibrazioni con ampiezza e frequenza più elevate si collocano nelle zone della vena dove tipicamente si sviluppa la stenosi, suggerendo la presenza di un nuovo ed importante meccanismo che coinvolge la parete del vaso. Abbiamo poi condotto analisi di sensitività per valutare la robustezza e la coerenza dei risultati ed iniziato ad applicare queste tecniche di simulazione nell'ambito di uno studio longitudinale attualmente in corso.

- Supplementazioni di calcifediolo in pazienti emodializzati. Il deficit di vitamina D aumenta il rischio di mortalità in pazienti con MRC. Poco si conosce sugli effetti benefici ed eventuali eventi avversi della supplementazione di vitamina D sugli esiti cardiovascolari e mortalità in questi pazienti. Il gruppo di *Studio Metabolismo Minerale* della Società Italiana di Nefrologia, in collaborazione con l'Istituto Mario Negri, 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. Si tratta di uno studio di fase 3, multicentrico, condotto in 284 pazienti in emodialisi con deficit di vitamina D, randomizzati a ricevere calcifediolo per via orale o semplicemente con 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 et al, 2022).

h. Terapie innovative per il trattamento delle malattie renali. L'Istituto ha interesse di ricerca primario nelle terapie farmacologiche e cellulari innovative per la cura delle malattie renali e per il trapianto d'organo. Di seguito vengono presentati brevemente i risultati ottenuti in studi preclinici e clinici in questo campo di ricerca:

- Vescicole extracellulari ottenute da cellule stromali mesenchimali per la rigenerazione del tessuto renale. Studi recenti nell'ambito delle malattie renali acute e croniche hanno documentato che le cellule mesenchimali stromali umane da cordone ombelicale (ucMSC) ed i loro prodotti biologici presentano 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 con cisplatino 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 alterata dal danno renale acuto. Tra i mediatori responsabili di tale effetto benefico ci siamo focalizzati su NAMPT, una proteina coinvolta nella regolazione del metabolismo del NAD, poiché i livelli di mRNA che codifica per questa proteina aumentavano di quasi 6 volte in seguito a esposizione a ucMSC. I dati *in vitro* hanno confermato che l'esposizione alle EV riduceva le alterazioni mitocondriali e lo stress ossidativo nelle cellule danneggiate. Nell'ottica di incrementare ulteriormente la capacità terapeutica delle EV e di poterla applicare in futuro 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. Le ucMSC sono state trasfettate con Lentivirus per sovraesprimere la proteina NAMPT. Abbiamo osservato un aumento significativo dei livelli di mRNA di NAMPT nelle ucMSC trasfettate, rispetto a quelle di controllo e nelle EV da loro prodotte. Le EV così ingegnerizzate sono state testate *in vitro* per valutare la rilevanza biologica dell'aumentata espressione di NAMPT. Le EV ingegnerizzate erano più efficaci nel ridurre il danno alle cellule renali indotto da cisplatino. Le EV così modificate saranno testate in modelli animali di insufficienza renale acuta indotta da cisplatino. Questo studio aiuterà a chiarire se le EV modificate possano rappresentare uno strumento più efficiente rispetto alle terapie cellulari convenzionali nella cura delle malattie renali.

- Rigenerare il cuore e rene diabetico utilizzando nanoparticelle in grado di rilasciare selettivamente l'ormone tiroideo nelle cellule danneggiate. La DN e la DC sono due fra le maggiori complicanze del diabete e causa di circa un terzo dei decessi nella popolazione diabetica. Caratteristiche distintive di queste due condizioni sono la de-differenziazione cellulare, l'ipertrofia, la proliferazione anomala e la riattivazione delle vie metaboliche proprie dello sviluppo fetale. Studi preclinici e le 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, per i possibili effetti avversi dovuti all'attivazione di un *pathway* con funzioni pleiotropiche. L'obiettivo del progetto è quello di sviluppare sistemi innovativi di rilascio mirato del farmaco basati su nanoparticelle, in grado di riconoscere e rilasciare l'ormone tiroideo selettivamente nelle cellule danneggiate dallo stress diabetico per rigenerare i tessuti danneggiati e ripristinare la funzionalità cardiaca e renale. Durante il primo anno del progetto, i nostri partner (OZB Biosciences ed il Dipartimento di Chimica dell'Università di Atene) hanno sintetizzato i primi sistemi di *delivery* basati su nanoparticelle.

Nel corso del 2021, nel nostro laboratorio 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 non inducono citotossicità e risultano specifici per le cellule danneggiate da elevati livelli di glucosio. Sulla base di questi risultati siamo passati alle prime fasi di sperimentazione *in vivo*, in un modello animale di diabete di tipo 2 (ratti ZDF). In particolare, i nostri partners hanno eseguito studi di tossicità su ratti controllo e ZDF, dimostrando che i nanotrasportatori sviluppati sono ben tollerati e non inducono segni di tossicità *in vivo*. Nel corso del 2022, nel nostro laboratorio sono stati eseguiti studi di specificità *in vivo* per determinare la capacità dei nanotrasportatori di rilasciare TH selettivamente nel rene e nel cuore dei ratti diabetici. I due sistemi di nanoparticelle (marcati con un fluoroforo) sono stati testati in ratti ZDF e nei rispettivi controlli sani. Dopo singola somministrazione, si è osservato, per entrambi i sistemi, un accumulo selettivo di TH nel rene e nel cuore dei ratti ZDF. Inoltre, non si è dimostrato un deposito significativo dei nanotrasportatori negli altri organi studiati (ad esempio nel cervello, polmoni, fegato). Sulla base di questi risultati siamo passati alla fase successiva dello studio che prevedeva il trattamento in cronico (2 mesi) per valutare l'efficacia terapeutica dei due sistemi.

- Trial NEPHSTROM: terapia cellulare nella malattia renale diabetica. La terapia cellulare con cellule mesenchimali stromali (MSC) rappresenta una strategia di trattamento innovativa per prevenire e riparare il danno renale della malattia diabetica. Il nostro 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 di fase 1b/2a (*Novel Stromal Cell Therapy for Diabetic Kidney Disease*), che è parte di un progetto EU Horizon 2020 Framework Programme (grant 634086). 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, seguiti per 18 mesi. Inoltre, l'Istituto ha contribuito con gli altri membri del Consorzio NEPHSTROM alla preparazione di un manoscritto che aveva l'obiettivo di comparare attraverso un'analisi di costo-efficacia la terapia con MSC, la terapia farmacologica convenzionale e quella che include la nuova classe di inibitori SGLT2 nel trattamento della malattia diabetica del rene (Barry et al, 2022).

- Studio MESNEPH: terapia cellulare nella sindrome nefrosica idiopatica corticosensibile a frequenti recidive o steroide-dipendente. Lo studio MESNEPH, disegnato dall'Ospedale Bambin Gesù di Roma in collaborazione con l'Istituto Mario Negri, si propone di valutare la sicurezza ed efficacia dell'impiego delle MSC autologhe ottenute dal midollo osseo come terapia immuno-modulatoria in pazienti pediatriche e giovani adulti affetti da sindrome nefrosica idiopatica cortico-sensibile a frequenti recidive o steroide-dipendente. I pazienti arruolati nello studio sono stati sottoposti ad aspirato midollare e ad agobiopsia renale. Dopo purificazione ed espansione delle MSC dal sangue midollare (in strutture autorizzate da AIFA secondo GMP per la produzione di prodotti cellulari ad uso terapeutico nei due centri partecipanti allo studio, Roma e Bergamo), i pazienti hanno ricevuto 2 infusioni di MSC autologhe per via endovenosa distanziate di 7 giorni. Ogni effetto collaterale, sia durante l'infusione che nei 12 mesi successivi, è stato accuratamente registrato, insieme a dati clinici e laboratoristici relativi alle recidive, alla terapia immunosoppressiva concomitante ed all'effetto immuno-modulatorio *in vivo* di tale terapia. L'Istituto Mario Negri ha contribuito all'analisi del profilo di sottopopolazioni

di linfociti T nel sangue periferico di tutti i pazienti trattati con le MSC, oltre ad aver eseguito tutte le analisi statistiche previste dal protocollo MESNEPH.

Cellule mesenchimali stromali nel trapianto di rene. Studi condotti in centri americani nel decennio scorso hanno dimostrato la fattibilità clinica e, in alcuni casi, l'efficacia di terapie cellulari con cellule staminali ematopoietiche per indurre tolleranza in pazienti con trapianto di rene. Tuttavia, queste terapie cellulari richiedono regimi di condizionamento pre- e peri-trapianto con farmaci e biologici citotossici che pongono i pazienti a rischio elevato di infezioni (a volte mortali), aplasia midollare e malattia del trapianto contro il ricevente (GVHD). I rischi di questi protocolli superano di gran lunga i benefici associati all'eventuale sviluppo della tolleranza immunologica dell'organo trapiantato. Ciò ci ha suggerito di individuare soluzioni alternative che abbiano un rapporto rischio/beneficio accettabile nella pratica clinica. In questo contesto, l'infusione delle MSC potrebbe rappresentare la strategia alternativa ed innovativa per indurre tolleranza in pazienti con trapianto di rene. Ci sono anche evidenze che le MSC eludono il sistema immunitario e possono quindi essere infuse in un organismo allogenico senza rigetto e la necessità di regimi di pre-condizionamento. Sulla base di studi preclinici, l'Istituto ha disegnato e condotto alcuni progetti clinici con l'impiego delle MSC nel trapianto d'organo, di cui di seguito illustriamo quelli relativi al trapianto di rene:

- **Studio MSC-Tolerance.** Oltre alla loro potenzialità riparativa ed antinfiammatoria, le MSC esercitano un'importante azione immuno-modulatoria che coinvolge le cellule T regolatorie, le cellule T della memoria e le cellule dendritiche. Sulla base dei risultati incoraggianti nel modello sperimentale di trapianto di rene e di cuore, abbiamo disegnato ed 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 immuno-modulazione 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 quasi 5 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. Il nostro centro ha arruolato altri pazienti con trapianto di rene da donatore vivente che hanno ricevuto pre-trapianto con MSC autologhe; il loro monitoraggio immunologico e quello della funzione dell'organo trapiantato proseguono secondo quanto previsto dal protocollo di studio. Un secondo paziente che ha sviluppato un ambiente pro-tollerogenico in seguito alla singola infusione pre-trapianto di cellule MSC autologhe ha iniziato la progressiva riduzione della terapia immunosoppressiva, senza effetti negativi sulla funzione del rene trapiantato.

-**Studio Third-party MSC-TX tolerance.** Questo secondo studio, disegnato più recentemente dal nostro 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 ed al donatore dell'organo, come strategia per indurre tolleranza in pazienti che ricevono un trapianto di rene da un

donatore deceduto. Le MSC vengono ottenute dal midollo osseo secondo protocolli standardizzati ed autorizzati dalle autorità regolatorie competenti. Anche per questo studio, l'obiettivo primario è stabilire la tollerabilità e sicurezza dell'infusione pre-trapianto delle MSC allogene e quello secondario è di caratterizzare gli eventuali meccanismi di immunomodulazione pro-tollerogenici attivati dalle cellule nel ricevente, in presenza della terapia farmacologica immunosoppressiva convenzionale. Lo studio è randomizzato in aperto, con un gruppo di pazienti trattati con MSC e terapia immunosoppressiva convenzionale ed un secondo gruppo di controllo, in cui i pazienti ricevono la sola terapia di immunosoppressione convenzionale. Sono stati arruolati nello studio in totale 11 pazienti e l'arruolamento è in corso.

ATTIVITÀ NELL'AMBITO DEL GLOBAL BURDEN OF DISEASES (GBD)

Sin dal 2007 il Dipartimento di Medicina Renale collabora con l'*Institute of Health Metrics and Evaluation (IHME)* dell'Università di Washington a Seattle nell'ambito del progetto Global Burden of Diseases and Injuries (GBD) nel definire la stima di diversi parametri epidemiologici delle malattie renali e genitourinarie a livello globale. Più recentemente, questa collaborazione si è estesa in generale ad ambiti di salute pubblica relativi a diverse altre malattie noncomunicabili e comunicabili e loro fattori di rischio che hanno in qualche modo relazione con le malattie renali nelle diverse fasce d'età. Il focus di questi studi è la stima dell'incidenza e prevalenza delle varie malattie e della mortalità associata a livello globale, regionale, nazionale e in alcuni casi subnazionali in tutto il mondo. Parametri tipici degli studi GBD sono: i) gli anni di vita persi per morte precoce rispetto all'attesa per una data fascia di età (YLL); ii) gli anni vissuti con disabilità legata a ciascuna malattia (YLD); e iii) l'insieme di YLL e YLD definite con DALYS (attesa di vita corretta per disabilità), oltre che iv) l'aspettativa di vita totale e quella di buona salute. Le stime vengono definite attraverso complessi modelli matematici periodicamente aggiornati con nuovi input di dati che permettono di valutare eventuali cambiamenti intercorsi tra il 1990 e il 2021, e offrire ai sistemi di salute nazionale o internazionale strumenti e informazioni per disegnare/aggiornare politiche sanitarie in grado di migliorare e contrastare le diseguaglianze. Nel 2022, il contributo del Dipartimento di Medicina Renale alle attività GBD è riconosciuto nella pubblicazione di 4 lavori sulle riviste internazionale *Lancet*, *Lancet Healthy Longevity*, e *Lancet Infection Diseases*. Inoltre, il Dipartimento partecipa da anni alle attività del gruppo GBD Italia che per il 2022 si è tradotto in 2 pubblicazioni sulla mortalità, incidenza e prevalenza di malattie noncomunicabili tra gli adolescenti in Europa (*Lancet Child Adolescent Health*), e sull'analisi dei limiti delle stime GBD per l'Italia (*Eur J Public Health*).

ATTIVITA' DI RICERCA NELL'AMBITO DELLA SALUTE PUBBLICA

- Il Dipartimento di Salute Pubblica nell'ambito del progetto **EPIFARM** (Epidemiologia del Farmaco) finanziato in parte dalla Regione Lombardia si occupa della valutazione del profilo prescrittivo dei farmaci in età pediatrica. Le attività di ricerca condotte nel corso del 2022 hanno riguardato in particolare il monitoraggio della prevalenza e dell'incidenza dei disturbi dello spettro autistico nella popolazione pediatrica della regione Lombardia e il monitoraggio degli psicofarmaci prescritti ai bambini con questo disturbo negli 8 anni successivi al momento della diagnosi.

- È terminato, dopo 16 anni, il progetto del **Registro Lombardo dell'ADHD**. A tutto il 2022 sono stati inseriti 7.107 nuovi pazienti in carico ai 19 Centri di Riferimento di cui 4.777 con diagnosi accertata, 2.073 a cui non è stato riscontrato l'ADHD e 257 ancora in corso di valutazione. Gli invianti principali ai Centri di Riferimento sono stati la scuola (30%) e la UONPIA (21%). Dei 4.777 pazienti a cui è stato diagnosticato l'ADHD sono risultati 4.661 (98%) pazienti con terapia assegnata, di cui 3.793 (81%) con solo terapia psicologica, 747 (16%) pazienti con trattamento combinato e 121 (3%) pazienti in solo trattamento farmacologico. Le comorbidità più frequentemente riscontrate sono state: i disturbi dell'apprendimento (38%), i disturbi del sonno (14%) e il disturbo oppositivo/provocatorio (14%). Dopo 183 numeri cessa anche la pubblicazione mensile di Newsletter ADHD. Nato come strumento di informazione per gli operatori e i giovani in formazione, l'accoglienza ricevuta e incrementata negli anni testimoniano se non l'utilità i favori ricevuti. Per quanto semplice, ma essenziale, Newsletter ADHD rimane a tutt'oggi unica. Confidiamo che rappresenti un riferimento da implementare e migliorare non solo nell'area neuropsichiatrica. La caratteristica di fornire per i risultati degli studi italiani l'intero testo sottostava all'idea di stimolare la creazione e il potenziamento di reti nazionali o di favorire la creazione di contatti tra gruppi e professionisti italiani: unire la ricerca alla pratica. In questa direzione e per andare oltre, su richiesta, venivano forniti i testi degli articoli recensiti con il solo abstract: un/al servizio di in-formazione.

- 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 2022, per 4.344 neonati (86%) è stata effettuata la visita di controllo a 12 mesi, per 3.424 (68%) la visita a 24 mesi e per 1.540 (30%) la visita ai 36 mesi di età. 632 famiglie si sono rese disponibili a partecipare a una valutazione specifica riguardante il neurosviluppo del bambino e lo stress genitoriale.

- Prosegue il 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 è conclusa la FASE 1. Alla prima fase del progetto TransiDEA hanno partecipato, compilando una survey online, 204 centri (99 servizi pediatrici e 105 dell'adulto) per le 3 patologie target: Diabete, Epilessia, ADHD. Dai risultati è emerso un quadro frammentato circa le modalità di gestione della Transition, evidenziando una grande variabilità del tempo effettivo richiesto e dei modi di gestire colloqui e passaggio di informazioni. A conferma della scarsa uniformità di gestione, è emerso che solo una minoranza dei servizi hanno a disposizione un protocollo che fornisca linee guida per il percorso di transizione (ad esempio solo il 27% dei Servizi per ADHD). Molti dei limiti percepiti sono gli stessi per tutti i servizi: carenza di risorse, problemi organizzativi e difficoltà di comunicazione. Allo stesso tempo, specifici bisogni emergono. Ad esempio, operatori nell'ambito di diabete e epilessia

riportano la necessità di maggiore sostegno psicologico, mentre gli operatori che seguono pazienti con ADHD riferiscono maggiormente la mancanza di formazione, sia per psichiatri per adulti che condivisa. I risultati della fase 1 sono stati condivisi con i partecipanti mediante la stesura di un report.

- All'interno del Laboratorio Clinical Data Science risiede il Centro di Coordinamento del gruppo collaborativo **GiViTI (Gruppo italiano per la Valutazione degli interventi in Terapia Intensiva)**. Fulcro degli studi clinici promossi è il Progetto **MargheritaPROSAFE**, 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). Il progetto è nato in Italia, ma da gennaio 2011, è diventato internazionale. Grazie ad un finanziamento della Unione Europea è stato infatti possibile coinvolgere Cipro, Grecia, Israele, Slovenia e Ungheria. Nell'anno 2022 le raccolte dati attive hanno riguardato la sorveglianza delle infezioni e colonizzazioni, i traumi, i trapianti di fegato, una particolare patologia neurologica (l'emorragia subaracnoidea), l'ambito cardiocirurgico, l'ambito pediatrico e il COVID-19.

È poi proseguito lo **studio StART** (Studio sull'Appropriatezza dei Ricoveri in Terapia intensiva), attivato nelle regioni Toscana e Piemonte. Lo studio ha come obiettivo quello di valutare l'appropriatezza d'uso dei letti di Terapia Intensiva attraverso il confronto tra il livello di assistenza richiesto dai pazienti ricoverati e il livello di assistenza erogabile con la dotazione disponibile. Relativamente al progetto MargheritaPROSAFE, in Piemonte e Toscana è attiva una convenzione tra Regione e Laboratorio Clinical Data Science. L'accordo prevede l'elaborazione di diversi indicatori attraverso i quali le TI possono monitorare diversi aspetti della loro attività clinica. Gli indicatori consentono un'analisi della gestione delle risorse e della programmazione delle attività e possono essere utili alle TI che raccolgono i dati, alle amministrazioni, ai reparti ospedalieri con i quali le TI collaborano e ai laboratori ospedalieri. Nell'ambito delle convenzioni regionali si sta inoltre lavorando all'interfacciamento della cartella clinica MargheritaTre con il database di raccolta dati MargheritaProsafes. Nel corso del 2022 è stato avviato un gruppo di lavoro per rinnovare il software di raccolta dati e per aggiornare la lista delle variabili richieste.

- È 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 effettuare un'analisi di processo che ha come obiettivo il miglioramento della pratica di svezzamento dal ventilatore. Nel 2022 è stato inoltre avviato un

progetto per la realizzazione, a partire dai dati di MargheritaTre, di un database anonimizzato e accessibile alla comunità scientifica.

- **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. Al progetto partecipano 10 centri e sono stati reclutati circa 1200 pazienti. Al momento si stanno dosando le concentrazioni di antibiotici nei campioni di plasma e si stanno analizzando i dati clinici dei pazienti coinvolti.

- Lo studio ASAP (Antibiotic use during Sars-CoV-2 pandemic), promosso dal Laboratorio Clinical Data Science e finanziato da MSD per un importo totale di € 64.000,00, descrive come è cambiata la pratica clinica sull'uso degli antibiotici in Terapia Intensiva (TI) nel corso della pandemia di SARS-CoV-2 e quali sono stati gli effetti associati. Lo studio ha coinvolto 11 centri di TI che utilizzavano la cartella clinica MargheritaTre e si è articolato in due fasi:

1. analisi dei dati raccolti su pazienti di età maggiore di 16 anni ricoverati in TI dal 01 gennaio 2019 al 28 febbraio 2021 integrata con una ricerca di tipo qualitativa, tramite interviste semi-strutturate, focus group (gruppi di discussione) e somministrazione di un questionario (survey online);
2. restituzione ai centri partecipanti dei risultati conseguiti, attraverso visite sul campo da parte di chi ha condotto le analisi quantitative e qualitative e un incontro finale in plenaria, con l'obiettivo di migliorare le strategie di gestione delle informazioni e di utilizzo degli antibiotici in TI.

- Il Laboratorio di Epidemiologia Clinica, coordina il gruppo collaborativo Tiresia (Gruppo italiano per la ricerca clinica in medicina riabilitativa) il quale promuove uno studio sulla 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.

Sempre all'interno del laboratorio è presente il coordinamento del gruppo collaborativo Fenice (Gruppo italiano per la ricerca clinica in Medicina d'Urgenza) che promuove e realizza progetti di ricerca indipendenti in Pronto Soccorso e Medicina d'Urgenza. Gli studi attivi promossi dal gruppo sono:

a) **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.

b) **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.

c) **eCREAM** (enabling Clinical Research in Emergency and Acute care Medicine through automated data extraction) nasce dal finanziamento della Commissione Europea con la vincita del Bando HORIZON EUROPE. Il CoViD-19 ha dimostrato l'importanza di dipartimenti di emergenza-urgenza di alta qualità per assicurare le migliori cure ai pazienti. La prima valutazione clinica che viene fatta in Pronto Soccorso (PS) è essenziale nel decidere circa la necessità di ospedalizzare il paziente e nello stabilire i trattamenti più adeguati. Questo pone due grandi sfide: quella della ricerca clinica innovativa da un lato, quella della ricerca valutativa sulla qualità dell'assistenza (clinica e organizzativa) dall'altro. Ciò, tuttavia, si scontra con la grande difficoltà di condurre progetti di ricerca di qualsiasi tipo in PS, per l'insostenibilità di raccolte dati sistematiche. L'unico modo per colmare il divario fra il bisogno di ricerca e la possibilità di realizzarla è quello di estrarre i dati utili direttamente dagli applicativi di PS. Uno degli obiettivi principali di eCREAM è proprio lo sviluppo di nuove soluzioni per ricavare informazioni cliniche accurate e affidabili da diversi tipi di fonti, strutturate e non. I tre obiettivi principali di eCREAM sono: estrarre informazioni cliniche affidabili da dati strutturati e non strutturati, FAIRificazione dei database clinici e casi d'uso (la propensione ad ospedalizzare i pazienti e una piattaforma ad uso di cittadini e policymaker sulla situazione dei PS). I partner del progetto si trovano in: Francia, Gran Bretagna, Grecia, Polonia, Slovacchia, Slovenia e Svizzera.

- Presso il Policlinico S.Orsola-Malpighi ha sede il Centro di riferimento regionale per la diagnosi e il trattamento medico-chirurgico delle **Malattie Infiammatorie Croniche Intestinali (MICI)**. Tale Centro, altamente specializzato, assiste più di 10000 pazienti, provenienti da tutta Italia e con quadri di grande complessità. Il Centro svolge inoltre una importante attività di ricerca per la quale richiede la disponibilità di dati clinici dei pazienti in carico sempre aggiornati e accurati. A fronte di questa situazione, l'obiettivo di questa collaborazione (Policlinico S.Orsola-Malpighi e laboratorio di epidemiologia clinica dell'Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri IRCCS) è quello mettere a disposizione del Centro una cartella clinica elettronica che possa coniugare l'ottimale gestione clinica alle esigenze di ricerca.

- 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.

- Le **Enterobacteriaceae** sono tra le cause più comuni di infezioni associate a pratiche sanitarie (HAI). L'emergere di ceppi (per lo più *Klebsiella pneumoniae* - Kp) resistenti ai carbapenemi è diventato un grave problema in tutto il mondo. Le Enterobacteriaceae resistenti ai carbapenemi (CRE), infatti, sono difficili da trattare e causano infezioni gravate da elevata morbilità e mortalità, aumentando i costi associati all'assistenza sanitaria. Questo onere è particolarmente elevato nelle Terapie Intensive (TI), dove il tasso di HAI è particolarmente elevato. L'Italia, in particolare, è uno dei paesi in cui le CRE sono diventate endemiche, con tassi di Kp (CRKp) resistenti ai carbapenemi superiori al 30% tra gli isolati di Kp. In questo contesto nasce il progetto **MUSE** (understanding the Mechanisms Underlying the Selection and spread of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in intensive care units. A multicenter clinical-epidemiological study coupled with molecular characterization - RF-2016-02364584), che ha l'obiettivo di migliorare la comprensione dei meccanismi e dei percorsi di disseminazione delle Enterobacteriaceae resistenti ai carbapenemi (CRE). Lo studio, osservazionale e prospettico, coinvolge 30 TI e prevede la raccolta dei dati clinici e dei tamponi effettuati ai pazienti reclutati nel progetto. Nel corso del 2022 si è proceduto con la raccolta dei dati e dei campioni biologici, si è lavorato per centralizzare al laboratorio di riferimento tutti i tamponi per iniziare le analisi fenotipiche e genotipiche dei ceppi isolati e si è proseguito con le analisi sulla disseminazione delle CRE.

- **Registro Italiano Sclerosi Multipla Patologie Correlate**. Il progetto è attivo dal 2015 e ha come obiettivo principale la creazione di una struttura organizzata multicentrica per raccogliere i dati di tutti i pazienti con finalità epidemiologiche, di sanità pubblica e di ricerca volta a migliorare le conoscenze sulle cause e sui trattamenti della malattia. Partecipano attivamente al progetto 133 centri e il data base raccoglie dati su più di 80.000 soggetti unici e univoci. La nuova modalità di raccolta dati via web, sviluppata ad dal Mario Negri in accordo al Comitato Scientifico (www.registroitalianosm.it), permette una raccolta dati ampia (più di 1200 variabili). I dati del progetto vengono monitorati per la loro qualità e sono stati inoltre sviluppati una serie di indicatori che periodicamente vengono condivisi con i centri.

Diverse le prospettive del progetto: analisi con dati amministrativi regionali e analisi dati per progetti ad hoc, partecipazione a pool di dati in collaborazione con EMA. Il progetto è sostenuto da un finanziamento della Fondazione Italiana Sclerosi Multipla.

- **Progetto CEE_DART: Oncologia di precisione**. Le strategie per il trattamento del cancro si stanno evolvendo e l'oncologia di precisione è ritenuta essere il futuro della lotta contro il cancro, ma quando le popolazioni di pazienti sono molto selezionate la ricerca soffre di problemi metodologici e organizzativi. Per superare queste difficoltà e per testare nuovi approcci tecnologici e metodologici, il consorzio europeo di centri clinici di eccellenza Cancer Core Europe (CCE) sta mettendo a punto la metodologia di studio Basket of Baskets trial (BoB), finalizzata a studiare trattamenti di precisione incorporando una piattaforma di profilazione molecolare. Il progetto DART – Building Data Rich Clinical Trials – finanziato dall'Unione Europea e sviluppato nell'ambito del consorzio CCE, sta sviluppando strumenti

informatici per la gestione delle sperimentazioni, integrando l'imaging e i marcatori molecolari di progressione del tumore e di risposta ai farmaci e sviluppando nuovi approcci metodologici per le sperimentazioni cliniche. Nell'ambito del progetto, il Laboratorio di Ricerca per il Coinvolgimento dei Cittadini in Sanità sta promuovendo il coinvolgimento attivo di pazienti, attraverso lo sviluppo di strumenti informativi via web, indagini su conoscenze ed opinioni di clinici e ricercatori e nonchè attraverso attività di formazione sui temi della Public and Patients involvement per clinici e ricercatori. Questa parte del progetto è svolta in stretta collaborazione con la Fondazione Istituto Nazionale dei Tumori di Milano IRCCS.

- Progetto Health Technology Assessment (HTA) su Screening portatore sano Fibrosi Cistica. Questo progetto ha l'obiettivo di valutare l'introduzione di un programma di screening per il portatore di fibrosi cistica (FC) rivolto alla popolazione generale. In particolare, è mirato a valutare se tale screening sia vantaggioso o svantaggioso dal punto di vista del Servizio Sanitario Nazionale e/o regionale e a livello individuale. Il progetto ha un approccio multidisciplinare e multidimensionale e segue una metodologia consolidata a livello europeo (modello EUnetHTA), che raccomanda di valutare diverse dimensioni: rilevanza della FC, in termini di incidenza e prevalenza, e offerta attuale del test del portatore; descrizione delle procedure di test disponibili e loro caratteristiche; efficacia delle diverse possibili offerte di screening; sicurezza delle diverse possibili offerte di screening; costi di percorso, valutazione economica e impatto sul budget; aspetti etici e di accessibilità; aspetti sociali; aspetti legali; impatto organizzativo. Queste dimensioni sono state analizzate utilizzando differenti approcci: revisione sistematica della letteratura; strumenti di economia sanitaria per la valorizzazione economica dei processi e per l'analisi dell'impatto del budget; approccio qualitativo, tramite questionari e interviste semi-strutturate rivolti a: operatori sanitari; persone con FC e familiari; popolazione target di una eventuale offerta di screening.

Il progetto è coordinato dal Laboratorio insieme al Centro Politiche Regolatorie in Sanità ed è svolto in collaborazione con l'Università Carlo Cattaneo – LIUC di Castellanza (VA) e Centro fibrosi cistica IRCCS Istituto Giannina Gaslini. È finanziato da Fondazione per la Ricerca sulla Fibrosi Cistica – Onlus.

- Progetto Follow-up e tumore della mammella. Il progetto dal titolo "I controlli periodici (follow-up) dopo la diagnosi e la terapia in pazienti liberi da malattia e asintomatici verso una personalizzazione delle strategie di FU" è stato finanziato da Regione Lombardia e ha avuto il coordinamento della Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori di Milano.

Il progetto era finalizzato a costruire, attraverso iniziative con medici oncologi, analisi di casistiche, interviste ad associazioni di pazienti, indagini con pazienti in follow-up, un documento di indirizzo per ottimizzare la pratica del follow up. Il follow-up è infatti una pratica ancora molto discussa per modalità ed efficacia dei modelli, molto eterogenea tra i centri e tra i pazienti e con un importante impatto economico sul Servizio Sanitario.

Il laboratorio è stato coinvolto in tre attività. Uno studio osservazionale, monocentrico, trasversale, no-profit sulla esperienza del follow-up e impatto sul lavoro in pazienti con tumore della mammella (coinvolte più di 800 pazienti che hanno compilato un questionario), una

indagine tramite intervista alle associazioni di pazienti della Regione Lombardia (più di 40 associazioni del territorio coinvolte) e una analisi con metodologia Gap con oncologi clinici.

Tutti i risultati ottenuti sono stati presentati e discussi in un convegno pubblico.

- **Progetto BEUC.** Conoscenze, opinioni e attitudini dei cittadini europei su modello di ricerca e sviluppo dei nuovi farmaci e su meccanismi di definizione del prezzo dei farmaci. Con l'obiettivo di esplorare conoscenze, opinioni e attitudini dei cittadini europei sull'attuale modello di ricerca e sviluppo dei nuovi farmaci e sui meccanismi di definizione del prezzo dei farmaci, BEUC, associazione europea di consumatori - in collaborazione con Altroconsumo per la parte italiana - ha commissionato una serie di focus group in Italia, Spagna e Olanda. Il Laboratorio di ricerca per il coinvolgimento dei cittadini in sanità e il Centro di politiche regolatorie in sanità sono l'unità metodologica responsabile della pianificazione, conduzione e analisi dei risultati dei focus group italiani. Sono stati affrontati diversi temi, tra cui: processo e meccanismi di ricerca e sviluppo dei nuovi farmaci, costi di ricerca e sviluppo, confidenzialità dei costi, ricavi delle aziende farmaceutiche, finanziamenti pubblici, procedure di rimborso, confidenzialità del prezzo effettivo dei farmaci, fattori in gioco nella definizione del prezzo dei farmaci, valore di un (nuovo) farmaco.

I risultati hanno mostrato che in generale i cittadini vedono i farmaci come beni essenziali che non dovrebbero essere regolati dalle comuni dinamiche di mercato. C'è richiesta di una forte regolamentazione pubblica nel settore sanitario e farmaceutico, maggiore trasparenza sui costi di ricerca e sviluppo, ritorno pubblico sugli investimenti pubblici, nuovi approcci per incentivare farmaci che apportano valore terapeutico aggiunto e strutture sovranazionali sui prezzi dei farmaci. Il progetto è finanziato da Altroconsumo Edizioni srl.

- **Indagine AIOM-Mario Negri sull'uso degli strumenti di Digital Health tra gli oncologi italiani.** Indagine su conoscenze, uso e attitudini verso strumenti di digital health tra gli oncologi italiani. Covid-19 ha incrementato l'impiego di strumenti di digital health tra i medici a tutti i livelli e in tutte le aree mediche. L'obiettivo di questo progetto è quello di analizzare, con uno studio osservazionale tramite un'indagine online, conoscenze, attitudini verso l'innovazione digitale (in particolare sistemi di telemedicina/telemonitoraggio, app, wearable, intelligenza artificiale, realtà virtuale/aumentata, terapie digitali) tra i medici oncologi afferenti ad AIOM (Associazione Italiana Oncologia Medica). I dati saranno raccolti con una survey condotta online tra i medici oncologi che afferiscono a AIOM. Il questionario (composto da 31 domande chiuse, molte delle quali organizzate in sotto-domande, per un totale complessivo di 72 domande), è stato messo a punto partendo dalla letteratura scientifica disponibile. I risultati permetteranno di discutere le opportunità offerte da questi strumenti nel favorire lo sviluppo e l'ingresso nella pratica clinica di soluzioni di digital health, particolarmente apprezzate (sia da medici che da pazienti) in questo periodo nel quale la pandemia ha reso difficile le visite e il monitoraggio in presenza.

- **Revisione sistematica della letteratura sull'uso degli strumenti di digital health in ambito oncologico.** Gli strumenti di digital health si sono imposti tra le nuove tecnologie in grado di favorire la trasformazione digitale della sanità. L'obiettivo di questo progetto è quello di condurre una revisione sistematica della letteratura per analizzare e descrivere gli studi condotti a livello internazionale su strumenti di digital health applicati all'ambito oncologico.

Per condurre la revisione sistematica si farà riferimento agli studi pubblicati dalle riviste mediche indicizzate in Medline, Embase e in altri database di citazioni bibliografiche. Saranno operate delle specifiche ricerche su questi database per individuare gli studi il cui obiettivo è fornire un supporto alle patologie oncologiche tramite l'impiego di strumenti di digital health. I risultati permetteranno di descrivere le caratteristiche di questi studi in funzione di vari parametri tra cui la patologia oncologica nella quale lo studio è stato condotto, la funzione dello strumento di digital health in studio in termini di outcome (per esempio aderenza al trattamento, monitoraggio, qualità della vita, terapia digitale) e il tipo di tecnologia alla base dello strumento di digital health (app medica/salute, wearable, IoT, sistema web-based, Realtà virtuale/aumentata, Videogiochi, ecc). I risultati forniranno indicazioni sugli strumenti ad oggi realizzati e validati scientificamente sul campo che abbiano sufficienti dati di sicurezza ed efficacia clinica.

- **Studio LAPTOP-PPI.** Il laboratorio di Farmacoepidemiologia e Nutrizione Umana sta conducendo lo studio LAPTOP-PPI (Low-cost informative intervention to improve the Appropriate PrescripTion of Proton Pump Inhibitors in Older People) che è uno studio controllato randomizzato a cluster che intende valutare l'efficacia di un intervento educativo rivolto ai medici di medicina generale delle ATS di Bergamo e dell'ASL di Caserta nel ridurre le prescrizioni inappropriate di farmaci per ulcera peptica e malattia da reflusso gastroesofageo (GERD) nei pazienti anziani (65+ anni), che risiedono in comunità. Una prima valutazione ha evidenziato nel 2019 una prevalenza di prescrizioni inappropriate di circa il 60% in entrambi i territori, con un tasso superiore nella zona di Caserta (63%) rispetto a quella di Bergamo (54%). Lo studio è finanziato dal programma di Ricerca Finalizzata Giovani Ricercatori promosso dal Ministero della Salute.

- **ONFOODS (Research and innovation network on food and nutrition Sustainability, Safety and Security – Working ON Foods).** Il laboratorio di Farmacoepidemiologia e Nutrizione Umana sta coordinando le attività dell'Istituto Mario Negri nell'ambito del Paternariato Esteso ONFOODS, che riunisce 26 università, enti di ricerca e aziende, pubbliche e private, con lo scopo di studiare nuovi modelli per un'alimentazione sostenibile. ONFOODS agisce con un approccio globale, unendo le forze e le competenze di diverse discipline, che vanno dalle scienze sociali e giuridiche all'economia agraria, chimica degli alimenti, tecnologia e ingegneria alimentare, logistica, microbiologia, marketing, nutrizione umana, e molte discipline sanitarie. L'obiettivo è quello di preservare l'ambiente, agendo sull'attuazione virtuosa dei nostri sistemi alimentari e, allo stesso tempo, migliorando il benessere della popolazione e allungando la vita vissuta in buona salute, riducendo le morti evitabili e le iniquità, ponendo la persona al centro di un sistema previdenziale più efficace, sicuro, sostenibile ed equo.

All'interno di questo paternariato, il laboratorio si è inserito nello spoke 6, che ha lo scopo di studiare e disegnare nuove strategie per contrastare la malnutrizione nelle popolazioni fragili. In questo contesto, il laboratorio sta conducendo lo **studio REPRESS** (Reduction of dietary salt intake to control systolic blood pressure in hypertensive older patients: the repress randomized controlled trial), che ha lo scopo di determinare l'efficacia di un intervento

educazionale, volto a ridurre il consumo di sale nella dieta di persone anziane con ipertensione moderata ed esposte a politerapia, al fine di migliorare il controllo della loro pressione arteriosa. All'interno del paternariato, il laboratorio si è inserito anche nello spoke 7, che si occupa di policy, education e behaviour. In questo contesto, il laboratorio sta conducendo lo **studio LIVELY** (Multidimensional school-based and family Involved interventions, to promote a healthy and sustainable lifestyle for the childhood obesity primary prevention: the LIVELY study), che all'interno di un setting scolastico, grazie al coinvolgimento di 300 bambini di 6-11 anni, dei loro insegnanti e delle loro famiglie, propone un approccio educativo multidimensionale, dove attraverso il gioco ed un percorso digitale condiviso con professionisti esperti in discipline artistiche, si promuoveranno i principi di una dieta sana e sostenibile.

- Iatrogenesi e appropriatezza prescrittiva nelle RSA. Gli anziani residenti nelle Residenze Sanitarie Assistenziali (RSA) sono comunemente affetti da numerose patologie croniche e di conseguenza sono trattati con un elevato numero di farmaci. I problemi più rilevanti della politerapia degli anziani in RSA sono l'inappropriatezza prescrittiva (il 40% circa delle prescrizioni farmacologiche risulta inappropriato), l'elevato consumo di farmaci psicotropi, e il rischio di interazioni farmacologiche e di reazioni avverse da farmaci. La disponibilità di dati nazionali relativi alle classi farmacologiche maggiormente impiegate nelle RSA consente di evidenziare situazioni di potenziale rischio iatrogeno e di scarsa appropriatezza prescrittiva su cui promuovere specifici interventi di formazione del personale sanitario. Il progetto Korian, un lavoro collaborativo tra il nostro Istituto e Segesta 2000 Srl, società afferente a Korian Italia, è stato avviato con lo scopo di valutare l'appropriatezza prescrittiva nei pazienti residenti presso le strutture residenziali di Korian Italia. Uno studio condotto per valutare l'ipotesi che i lassativi, comunemente usati tra i pazienti delle case di cura, potessero essere prescritti a seguito di una cascata di prescrizioni ha osservato che tra i 2602 pazienti reclutati, 1248 stavano assumendo lassativi (48%). Le benzodiazepine, gli agenti dopaminergici anti-Parkinson e gli antidepressivi (antidepressivi triciclici e mirtazapina) sono stati associati al trattamento lassativo nei modelli univariati e aggiustati. Gli utilizzatori di antidepressivi triciclici avevano una probabilità 3 volte maggiore di assumere lassativi rispetto ai non utilizzatori. Anche l'uso combinato di questi farmaci è risultato associato ad un ulteriore incremento nell'uso dei lassativi. L'ottimizzazione della prescrizione di farmaci psicotropi potrebbe aiutare a ridurre la "cascata di prescrizione" con i lassativi. (Elli et al, 2021). Le lesioni da pressione sono un problema di salute di particolare interesse per gli anziani e vengono utilizzate diverse scale per valutare il rischio di sviluppare queste ulcere. E' stato condotto uno studio per stimare la prevalenza dei residenti ad alto rischio di lesioni da pressione utilizzando la scala di Norton ed è stata esaminata la relazione con i fattori di rischio più importanti. E' stato osservato che tra i 1.252 residenti inclusi nell'analisi, 41 (3,3%) avevano una diagnosi di lesioni da pressione, 571 (45,6%) avevano un punteggio Norton ≤ 9 (alto rischio di sviluppare ulcere da pressione) e 453 (36,2%) avevano un punteggio compreso tra 10 e 14 (rischio basso o moderato). Il modello univariato ha mostrato una relazione tra sesso femminile, età, demenza e malattia cerebrovascolare con un punteggio della scala di Norton ≤ 9 . Le associazioni significative sono state confermate nel modello multivariato. Lo studio ha concluso che la prevalenza di residenti ad alto rischio di lesioni da pressione era molto alta

utilizzando la scala di Norton, ma la percentuale di residenti che sviluppano queste ulcere era decisamente inferiore. Le donne con età avanzata, affetta da demenza e con una storia di malattia cerebrovascolare sono risultate le più a rischio e per questo dovrebbero essere attentamente monitorate (Elli et al., 2021). È stato recentemente avviato uno studio in collaborazione con e le RSA del Gruppo Coopselios sul tema della promozione dell'appropriatezza prescrittiva. Più nello specifico la collaborazione è volta a migliorare l'uso degli inibitori della pompa protonica (PPI) attraverso specifici interventi formativi/informativi cercando di ridurre l'impiego nei soggetti che non necessitano il trattamento e valutando gli effetti della de-prescrizione sull'uso di farmaci prescritti come effetto di una cascata prescrittiva, come i farmaci antianemici.

- Pazienti in fine vita. I dati raccolti nello studio VIDAS, che include soggetti in fine vita assistiti a domicilio e in hospice, sono stati analizzati per valutare stimare la prevalenza dello stato confusionale acuto (delirium), utilizzando il test di valutazione per il delirium e il deterioramento cognitivo (4AT). Lo studio, trasversale retrospettivo, è stato condotto su pazienti in fine di vita in un hospice o assistiti a domicilio. Fra i 461 pazienti analizzati, 76 (16,5%) erano ricoverati e l'83,5% (385) erano ambulatoriali. L'età media era di 79,5 (72-86) anni e il 51,0% era di sesso femminile. Circa il 33,8% dei pazienti oncologici ricoverati presentava delirium, mentre fra i pazienti oncologici ambulatoriali erano il 20,6%. La prevalenza del delirium variava a seconda del contesto, delle condizioni cliniche e dell'aspettativa di vita. Inoltre, il 55,0% dei pazienti in hospice ha manifestato delirium negli ultimi 3 giorni di vita, mentre a domicilio sono risultati essere il 56,7%. Tra i soggetti con aspettativa di vita superiore a 4 giorni, la prevalenza è risultata pari al 30,4% in hospice e al 22,8% fra i soggetti ambulatoriali. Il nostro studio conferma che il delirium è comune nei pazienti con cure palliative oncologiche e non. Ulteriori ricerche sul delirium nei pazienti in cure palliative di fine vita dovrebbero considerare la complessità delle cure palliative di questa popolazione così come le caratteristiche dei contesti. (Pasina et al., 2021). I dati raccolti nello studio VIDAS, che include soggetti in fine vita assistiti a domicilio e in hospice, sono stati analizzati per valutare l'ipotesi che un maggiore carico anticolinergico indotto dalla terapia farmacologica sia associato ad un maggior rischio di stato confusionale acuto (delirium). Il carico anticolinergico è stato analizzato utilizzando la scala ACB (Anticholinergic Cognitive Burden scale). Fra i 461 inclusi nell'analisi, 124 (26,9%) avevano una diagnosi di delirium ed è stata osservata una relazione significativa tra il punteggio ACB e il rischio di delirium. I pazienti nella classe $ACB \geq 4$ avevano un rischio di delirium superiore di circa 3 volte. La relazione dose-effetto tra il punteggio ACB e il delirium è stata mantenuta anche dopo aver corretto l'analisi per i fattori di rischio noti, quali, età, setting di assistenza, demenza, tumori, giorni di assistenza e compromissione funzionale. Per i medici che assistono i soggetti in fine vita, un punteggio alla scala $ACB \geq 4$ può essere considerato come soglia utile per identificare le popolazioni ad alto rischio di delirium farmaco-indotto e che potrebbero trarre vantaggio dalla riduzione del carico anticolinergico (Pasina et al, 2021). Gli studi finora condotti suggeriscono che la qualità delle prescrizioni possa essere migliorata, poiché, nonostante sia stata osservata una riduzione nell'uso di trattamenti preventivi, rimangono tuttavia ampi margini di miglioramento. In caso contrario, i soggetti in fine vita continuano a rimanere esposti a trattamenti futili e a interazioni tra farmaci potenzialmente gravi ma evitabili. A partire da queste premesse è stato avviato un percorso

collaborativo tra l'Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri IRCCS e Fondazione VIDAS sul tema della promozione dell'appropriatezza prescrittiva con lo scopo di definire in maniera più precisa, rispetto ai dati emersi dai precedenti studi, la prevalenza dei soggetti trattati in maniera non-appropriata con i farmaci ad effetto preventivo più comunemente utilizzati (antiaggreganti piastrinici, anticoagulanti e inibitori della pompa protonica), ovvero di definire la frequenza con cui i soggetti in fine vita che ricevono farmaci ad effetto preventivo non presentano alcuna condizione per cui il trattamento dovrebbe essere utilizzato, come ad esempio la gastroprotezione con inibitori della pompa protonica in assenza di farmaci gastrolesivi o condizioni che richiedono la riduzione della secrezione gastrica; o la profilassi cardiovascolare con antiaggreganti piastrinici in prevenzione primaria).

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 promosso diversi studi riguardanti la pandemia COVID:

- È stato condotto 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 questa raccolta dati è stata inoltre effettuata un'analisi che ha confrontato la popolazione vaccinata e non vaccinata che sviluppa COVID-19. Lo studio ha mostrato che il vaccino è in grado di ridurre significativamente il rischio di morte anche nelle persone che sviluppano infezioni break-through, ovvero le infezioni che colpiscono le persone già vaccinate. Lo studio, coordinato dal Laboratorio Clinical Data Science, ha arruolato nell'arco di un anno (dal 1° giugno 2021 al 31 giugno 2022) circa 1.000 pazienti provenienti da 27 terapie intensive. Dei 916 pazienti ricoverati in terapia intensiva, 262 erano vaccinati (28,6%). I pazienti vaccinati erano più anziani (71 vs. 63 anni), ed avevano una maggiore incidenza di comorbidità come ipertensione, diabete, neoplasie ecc. (91,2% vs. 65,7%) dei pazienti non vaccinati. L'analisi, condotta con i dati raccolti con un avanzato software chiamato Prosafe, ha permesso di attribuire a gruppi di pazienti con condizioni similari, in termini di età, presenza di comorbidità, e diverse condizioni cliniche all'ammissione in terapia intensiva, la probabilità di morte e di stimare la riduzione della mortalità grazie alla vaccinazione.

- Lo studio **Ec-Covid (Early CPAP in COVID patients with respiratory failure)** nasce nella prima fase dell'emergenza Covid-19, per valutare ed eventualmente dimostrare l'importanza di avviare il più precocemente possibile la ventilazione non invasiva con CPAP.

Gli obiettivi principali dello studio sono due:

1) Avviare una raccolta dati prospettica che fornisca informazioni cliniche dettagliate sui pazienti giunti in PS con infezione accertata o sospetta da COVID-19. Tale raccolta dati permetterà di:

- Monitorare e descrivere il volume di pazienti COVID-19 in carico ai PS italiani.
- Valutare l'impatto prognostico di caratteristiche cliniche e sociodemografiche, fattori di rischio e patologie preesistenti.
- Sviluppare un modello predittivo che fornisca una stima della prognosi sulla base di molteplici fattori rilevanti.
- Fornire una base di dati accurati per effettuare analisi di comparative effectiveness research (CER) su presidi, terapie e interventi, nella gestione e trattamento dei pazienti COVID-19. Queste analisi dovranno produrre ipotesi di efficacia, da testare

formalmente con disegno randomizzato, sempre nel contesto di questo studio e dopo approvazione dei competenti comitati etici.

2) Chiarire, attraverso un disegno randomizzato, se un trattamento precoce con CPAP, in aggiunta all'attuale pratica clinica, è in grado di ridurre la necessità di intubazione o il decesso, in pazienti con infezione accertata o sospetta da COVID-19 e insufficienza respiratoria.

Lo studio è terminato a fine giugno 2021, ma durante l'anno 2022 c'è stato il lavoro di scrittura di articoli sui risultati emersi.

- In Lombardia durante la pandemia è emersa immediatamente la difficoltà di quei Pronto Soccorso (PS) che si sono trovati al centro o in prossimità dei focolai nel gestire i flussi ingenti di pazienti. In aggiunta all'incremento del volume di arrivi (input), l'epidemia ha impattato drammaticamente sulla capacità di dimissione o ricovero del PS (output), a causa della saturazione dei reparti di degenza e di terapia intensiva in tutta la Regione. Inoltre, i PS si sono trovati nella necessità di modificare o adattare innumerevoli elementi di gestione dei pazienti (throughput), ad esempio per garantire l'isolamento dei pazienti infetti. In sintesi, l'epidemia ha influenzato tutti gli elementi del modello concettuale che è classicamente usato per descrivere l'affollamento dei PS. Risulta di grande importanza analizzare in profondità quanto è accaduto nella fase florida dell'epidemia, in modo da poterne ricavare conoscenze utili alla gestione delle successive riprese. Lo studio **Tsunami (Descrizione e previsione dell'impatto dell'epidemia COVID-19 sui Pronto Soccorso in Regione Lombardia)** ha come obiettivo: Descrivere quantitativamente l'impatto che l'epidemia di COVID-19 ha avuto sull'organizzazione e il funzionamento del sistema dell'emergenza-urgenza lombardo, in termini di input (chiamate al 118, accessi in PS e casistica osservata), throughput (tempi di attesa e di presa in carico dei pazienti in PS) e output (numero di ricoveri e dimissioni da PS);
- Costruire modelli statistici in grado di prevedere il numero di pazienti afferenti ai PS durante l'epidemia e la loro destinazione una volta completata la presa in carico (dimissione, ricovero ordinario, ricovero in semintensiva, ricovero in terapia intensiva, decesso);
- Valutare quantitativamente l'impatto che tutto ciò ha avuto sia sui pazienti COVID, sia sui pazienti non-COVID, in termini di possibilità di accesso alle cure ospedaliere, nonché di esito su indicatori di salute.

Lo studio è terminato a fine gennaio 2021, ma durante l'anno 2022 c'è stato il lavoro di scrittura di articoli sui risultati emersi.

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.

d. Nell'ambito degli studi sui determinanti clinici, sulla prognosi e sugli effetti a lungo termine della malattia da **COVID-19**, il laboratorio di Prevenzione Cardiovascolare è impegnato nelle seguenti ricerche:

1) analisi sul ruolo dei farmaci anti-iperglicemici (con azione antinfiammatoria, oltre a quella ipoglicemizzante) sulla prognosi dei pazienti COVID-19 in Lombardia. In merito a questo argomento è stato pubblicato un articolo su Diabetes Obesity and Metabolism su metformina e Covid-19 ed è in press un altro articolo sull'uso di DPP-4i, GLP-1 RA, SGLT-2i e Covid-19. Queste analisi rientrano nell'ambito della convenzione stipulata tra Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri IRCCS e la Regione Lombardia, relativa alle analisi da condurre utilizzando il DB-COVID della regione.

2) Analisi dell'impatto della malattia da COVID-19 sul rischio di eventi cardiovascolari a medio-lungo termine (Long Covid), in una popolazione non selezionata (ospedalizzati e non) tenendo conto delle diverse varianti di SARS-CoV2. Le analisi sono state condotte sia utilizzando i dati del DB della regione Lombardia sia i dati delle cartelle cliniche dei Medici di Medicina Generale. Lo studio rientra nell'ambito di un progetto all'interno della Rete Cardiologica in collaborazione con gli IRCCS (Manifestazioni cardiovascolari in Long Covid), che si è concluso a dicembre 2022. È stato scritto l'articolo, che al momento è submitted.

3) Studio sulla persistenza dei sintomi correlati all'infezione da COVID-19 dopo la fase acuta della malattia (Long Covid) nei pazienti di Medicina Generale. Lo studio si basa su un'indagine, ovvero un questionario, compilato direttamente dai pazienti. L'indagine si è conclusa a dicembre 2022. Sono state completate le analisi e si sta lavorando alla stesura dell'articolo.

e. Analisi del database COVID di Regione Lombardia relativamente alle condizioni di post COVID in termini di consumo di risorse sanitarie (riospedalizzazioni, visite ed esami specialistici, terapia farmacologiche) (Mannucci PM et al, 2022).

f. Il Dipartimento di Medicina Renale ha avviato:

- Lo **studio COVER 2** ha valutato in coorti appaiate gli esiti della malattia in 108 pazienti con COVID-19 in fase precoce e sintomatologia lieve/moderata, seguiti a domicilio dai loro medici di famiglia tra gennaio 2021 e maggio 2021, secondo un algoritmo di trattamento basato su farmaci antinfiammatori, e altri 108 pazienti COVID-19 simili per età, sesso, e comorbidità trattati con altri regimi terapeutici. Lo studio ha dimostrato che l'adozione dell'algoritmo di trattamento proposto nelle fasi precoci di COVID-19 a domicilio riduceva in modo importante e significativo il numero di pazienti che hanno richiesto il ricovero in ospedale rispetto alla coorte "controllo" (1/108 vs 12/108) (Consolaro et al, 2022).

In collaborazione con membri della Commissione COVID-19 dell'Accademia Nazionale dei Lincei, l'Istituto ha contribuito alla stesura di una review su "Long COVID" e le sfide che questa condizione pone per il sistema sanitario (Mantovani et al, 2022), e di un altro lavoro sulle evidenze scientifiche a supporto dell'efficacia e sicurezza dei farmaci già esistenti o nuovi per prevenire e trattare COVID-19 e le sue complicanze (Remuzzi et al, 2022).

Altri lavori, in collaborazione con l'Università degli Studi di Milano si sono focalizzati sulle stime dell'eccesso di mortalità in Italia durante la pandemia COVID-19 (Alicandro et al, 2022) e in collaborazione con Regione Lombardia, nell'impatto del post-COVID-19 sulle risorse dell'assistenza sanitaria in questa regione (Mannucci et al, 2022).

g. Sempre 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, 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 è iniziato nel 2020 con la raccolta di 9733 questionari (web o cartacei) compilati dai cittadini con informazioni sulla loro storia clinica e familiare, in particolare riferita alla malattia COVID-19. Dai questionari raccolti sono stati selezionati 1200 partecipanti che hanno effettuato il prelievo per le indagini genetiche. Di questi 1200 partecipanti: 400 hanno avuto una forma grave di COVID-19 (cioè hanno sviluppato insufficienza respiratoria con necessità di ossigeno o di ventilazione meccanica), 400 hanno contratto il virus non ammalandosi o avendo sintomi lievi e 400 non hanno contratto il virus. A giugno 2022 è stata completata la parte di laboratorio dell'analisi genomica del DNA estratto dai campioni raccolti nei 1200 partecipanti. Questa analisi è stata fatta mediante una tecnica molto avanzata, in grado di leggere centinaia di migliaia di possibili variazioni sul genoma umano. Sono state valutate circa 870.000 varianti di geni che possono essere implicati nell'ingresso del virus nelle cellule umane e nella risposta del nostro sistema immunitario, o varianti di geni che possono influenzare la severità e le complicanze della malattia. È in corso la stesura del lavoro per la pubblicazione dei dati.

l. 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.

h. 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.

i. Coordinamento, assieme al Policlinico di Milano, di un registro multicentrico (COVID-19 Network Working Group) esteso ad altri ospedali sia di Regione Lombardia che esterni alla Regione, relativo a pazienti ricoverati presso le unità COVID-19, cioè che al momento del ricovero non richiedono un ricovero in terapia intensiva, analizzarne le caratteristiche, 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 (Bandera A et al, 2022; Rossio R et al, 2022; Comelli M et al, 2022).

l. 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.

m. Analisi dei dati derivati da un'indagine facente parte del progetto "Monitoraggio della conoscenza, della percezione del rischio, del comportamento preventivo e della fiducia per informare la risposta allo scoppio di una pandemia" promosso dall'Ufficio regionale dell'OMS per l'Europa, condotto in Italia da Doxa (Bikbov B et al, 2022).

n. Presso il dipartimento di Medicina Molecolare è stato avviato:

Lo **studio ADAPTIVE** ha permesso indagare il profilo degli anticorpi diretti contro la proteina spike indotta dalla vaccinazione con due dosi di BNT162b2 e l'effetto di una dose booster. Abbiamo inoltre valutato l'attività neutralizzante di questi anticorpi mediante l'analisi dell'infezione di cellule in coltura con uno pseudovirus di SARS-CoV-2. In aggiunta, abbiamo indagato la capacità del vaccino di stimolare una risposta immunitaria cellulo-mediata, mediante l'analisi della reattività delle cellule T e B a diversi antigeni della proteina spike. Lo studio è stato sottomesso per la pubblicazione alla rivista *Frontiers of Immunology*.

Il Laboratorio di Biologia Cellulare e Medicina Rigenerativa si è occupato di chiarire i meccanismi attraverso cui l'infezione di SARS-CoV-2 è in grado di indurre danno endoteliale e trombosi, una delle complicanze più frequenti nei pazienti con COVID-19 severo. In particolare, l'attività di ricerca si è focalizzata sull'identificazione dei processi attraverso cui la subunità 1 della spike protein (S1) di SARS-CoV-2, legandosi al recettore 2 dell'angiotensina (ACE2), è in grado di attivare le cellule endoteliali. Attraverso esperimenti *in vitro* con cellule endoteliali umane del microcircolo del derma e del polmone, abbiamo dimostrato che S1 induce un robusto reclutamento di leucociti sulle cellule endoteliali a causa dell'aumentata espressione della molecola adesiva ICAM1 e della perdita di trombomodulina. Parallelamente, S1 è in grado di aumentare l'espressione di fattore di von Willebrand e P-

selectina, portando alla formazione di aggregati piastrinici sulle cellule endoteliali. Questo fenotipo pro-infiammatorio e pro-trombotico indotto da S1 porta inoltre al deposito di proteine del sistema complemento che contribuiscono a propagare processi infiammatori e trombotogenici nelle cellule endoteliali (Perico et al, 2022).

Inoltre, il laboratorio ha iniziato uno studio per mettere a punto un modello *in vivo* al fine di chiarire le basi fisiologiche, cellulari e molecolari del danno polmonare ed endoteliale durante l'infezione di SARS-CoV-2. Questo modello *in vivo* sarà utilizzato per testare diversi inibitori del complemento per capirne il potenziale terapeutico al fine di indentificare composti efficaci per i casi severi di COVID-19.

Infine, i laboratori di Biologia Cellulare e Medicina Rigenerativa e di Immunologia del Trapianto sono coinvolti nel progetto INF-ACT, un progetto finanziato dal Ministero dell'Università e della Ricerca nell'ambito del bando PNRR Partenariati Estesi (tematica Malattie Infettive Emergenti). Lo studio vuole chiarire le basi immunologiche che predispongono allo sviluppo di forme severe di COVID-19. In questo contesto, si svilupperanno nuove terapie di precisione che, mediante l'uso di nanoparticelle, permetteranno di modulare in modo estremamente selettivo un particolare tipo di cellule dell'immunità innata al fine di favorire la risposta antivirale.

o. Il Laboratorio di Epidemiologia degli Stili di Vita, in collaborazione con svariati centri di ricerca e università italiane, ha attivato due progetti volti a valutare l'effetto della pandemia da COVID-19 sugli stili di vita e sulla salute mentale della popolazione italiana (progetto **Lost in Italy**) e anziana (≥ 65 anni) lombarda (progetto **Lost in Lombardia**). Per quanto riguarda lo studio sulla popolazione generale italiana, è stato valutato come la pandemia abbia modificato alcune abitudini e stili di vita quali il fumo di tabacco, l'utilizzo di sigarette elettroniche e dispositivi a tabacco riscaldato, il gioco d'azzardo, il consumo di alcolici, e l'attività sessuale. Inoltre, è stato analizzato l'impatto della pandemia su indicatori di salute mentale (come sintomi di ansia, depressione, qualità e quantità del sonno e qualità della vita), utilizzo di psicofarmaci, impulsività e relazioni familiari. All'interno del progetto lombardo, invece, sono state condotte interviste telefoniche per valutare i determinanti dell'infezione da SARS-CoV-2 e l'impatto della pandemia sull'attività fisica e l'aumento di peso, l'alimentazione, l'incidenza e severità di acufene e perdita di udito, indicatori relativi alla salute mentale, e accesso alle cure nella popolazione anziana, con un focus sui soggetti con diabete. Inoltre, tramite l'analisi dei database sanitari, è stato possibile valutare l'impatto del COVID-19 sulle ospedalizzazioni tra gli anziani lombardi con patologie croniche.

SELEZIONE PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE 2022

Salamone A, Terrone G, Di Sapia R, Balosso S, Ravizza T, Beltrame L, Craparotta I, Mannarino L, Raimondi Cominesi S, Rizzi M, Pauletti A, Marchini S, Porcu L, Zimmer T S, Aronica E, During M, Abrahams B, Kondou S, Nishi T, Vezzani A

Cholesterol 24-hydroxylase is a novel pharmacological target for anti-ictogenic and disease modification effects in epilepsy

Neurobiol Dis 2022; 173: 105835

IF: 7.046

Trolese M C, Scarpa C, Melfi V, Fabbrizio P, Sironi F, Rossi Martina, Bendotti C, Nardo G

Boosting the peripheral immune response in the skeletal muscles improved motor function in ALS transgenic mice

Mol Ther 2022; 30: 2760-2784

IF: 12.91

Musardo S, Therin S, Pelucchi S, D'Andrea L, Stringhi R, Ribeiro A, Manca A, Balducci C, Pagano J, Sala C, Verpelli C, Grieco V, Edefonti V, Forloni G, Gardoni F, Meli G, Di Marino D, Di Luca M, Marcello E

The development of ADAM10 endocytosis inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease

Mol Ther 2022; 30: 2474-2490

IF: 12.91

Imbimbo B P, Ippati S, Watling M, Balducci C

A critical appraisal of tau-targeting therapies for primary and secondary tauopathies

Alzheimers Dement 2022; 18: 1008-1037

IF: 16.655

Moro F, Lisi I, Tolomeo D, Vegliante G, Pascente R, Mazzone E, Hussain R, Micotti E, Dallmeier J, Pischiutta F, Bianchi E, Chiesa R, Wang K K, Zanier E R

Acute blood levels of neurofilament light indicate one-year white matter pathology and functional impairment in repetitive mild traumatic brain injured mice

J Neurotrauma 2022

IF: 4.869

Beghi E, Giussani G, Westenberg E, Allegri R, Garcia-Azorin D, Guekht A, Frontera J, Kivipelto M, Mangialasche F, Mukaetova-Ladinska E B, Prasad K, Chowdhary N, Winkler A S

Acute and post-acute neurological manifestations of COVID-19: present findings, critical appraisal, and future directions

J Neurol 2022; 269: 2265-2274

IF: 6.682

Iaffaldano P, Lucisano G, Manni A, Paolicelli D, Patti F, Capobianco M, Brescia Morra V, Sola P, Pesci I, Lus G, De Luca G, Lugaresi A, Cavalla P, Montepietra S, Maniscalco G T, Granella F, Ragonese P, Vianello M, Brambilla L, Totaro R, Toscano S, Malucchi S, Petracca M, Moiola L, Ferraro D, Lepore V, Mosconi P, Tedeschi G, et al, Italian MS Register

Risk of getting COVID-19 in people with multiple sclerosis. A case-control study

Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm 2022

IF: 11.36

Leung Y, Barzilai N, Batko-Szwaczka A, Beker N, Boerner K, Brayne C, Brodaty H, Siu-Lan Cheung K, Corrada M M, Crawford J D, Galbussera A A, Gondo Y, Holstege H, Hulsman M, Ishioka Y L, Jopp D, Kawas C, Kaye J, Kochan N A, Hi-Po Lau B, Lipnicki D M, Lo W J, Lucca U, Makkar S R, Marcon G, Martin P, et al, Recchia A, Riva E, Tettamanti M

Cognition, function, and prevalent dementia in centenarians and near-centenarians: An individual participant data (IPD) meta-analysis of 18 studies

Alzheimers Dement 2022

IF: 16.655

Jarach C M, Lugo A, Scala M, Van den Brandt P A, Cederroth C R, Odone A, Garavello W, Schlee W, Langguth B, Gallus S

Global prevalence and incidence of tinnitus. A systematic review and meta-analysis

JAMA Neurol 2022; 79: 888-900

IF: 29.907

Barbato A, Bottesi G, Biondi M, Corbo M, De Girolamo G, Favaretto G, Garattini S, Migone P, Moderato P, Monzani E, Veltro F, Sanavio E

The Italian consensus conference on psychological therapies for anxiety and depressive disorders: findings and recommendations

Epidemiol Psychiatr Sci 2022; 31: e89

IF: 7.818

Aiello S., Gastoldi S., Galbusera M., Ruggerenti P., Portalupi V., Rota, S., Rubis N., Liguori L., Conti S., Tironi M., Gamba S., Santarsiero D., Benigni A., Remuzzi G., Noris M.

C5a and C5aR1 are key drivers of microvascular platelet aggregation in clinical entities spanning from aHUS to COVID-19.

Blood Advances 2022, 6(3), 866–881.

IF: 7.637

Alicandro G, La Vecchia C, Remuzzi G, Gerli A, Centanni S

Excess mortality in Italy in 2020 by sex and age groups accounting for demographic changes and temporal trends in mortality

Panminerva Med 2022; 64: 472-478

IF: 5.268

Barry L. E., Crealey G. E., Cockwell P., Elliman S. J., Griffin M. D., Maxwell A. P., O'Brien T., Perico N., O'Neill C.

Mesenchymal stromal cell therapy compared to SGLT2-inhibitors and usual care in treating diabetic kidney disease: A cost-effectiveness analysis.

PLOS ONE 2022, 17(11).

IF: 3.752

Benigni A., Tomasoni S.

Editorial: Women in renal pharmacology.

Frontiers in Pharmacology 2021, 13, 1054354.

IF: 5.988

Bikbov B., Soler M. J., Pešić V., Capasso G., Unwin R., Endres M., Remuzzi G., Perico, N., Gansevoort R., Mattace-Raso F., Bruchfeld A., Figurek A., Hafez G., the CONNECT Action (Cognitive Decline in Nephro-Neurology European Cooperative Target), Capasso G., Andrade A., Bachmann M., Bumblyte I., Covic A. C., Reusz G.

Albuminuria as a risk factor for mild cognitive impairment and dementia—What is the evidence?

Nephrology Dialysis Transplantation, 2021, 37(Supplement_2), ii55–ii62.

IF: 5.992

Bozzetto M., Poloni S., Caroli A., Curtò D., D’Haeninck A., Vanommeslaeghe F., Gjorgjievski N., Remuzzi A.

The use of AVF.SIM system for the surgical planning of arteriovenous fistulae in routine clinical practice.

The Journal of Vascular Access 2022, 112972982110626.

IF: 2.326

Bozzetto M., Soliveri L., Poloni S., Brambilla P., Curtò D., Condemi G. C., Cefali P., Spina I., Villa A., Caroli A., Remuzzi A.

Arteriovenous fistula creation with VasQ™ device: A feasibility study to reveal hemodynamic implications.

The Journal of Vascular Access 2022, 112972982210871.

IF: 2.326

Buelli S., Locatelli M., Carminati C. E., Corna D., Cerullo D., Imberti B., Perico L., Brigotti M., Abbate M., Zoja C., Benigni A., Remuzzi G., Morigi M.

Shiga Toxin 2 Triggers C3a-Dependent Glomerular and Tubular Injury through Mitochondrial Dysfunction in Hemolytic Uremic Syndrome.

Cells 2022, 11(11), 1755.

IF: 6.6

Caroli A.

Diffusion-Weighted Magnetic Resonance Imaging: Clinical Potential and Applications.

Journal of Clinical Medicine 2022, 11(12), 3339.

IF: 4.964

Carrara F., Ruggenenti P., Perna A., Iliev I. P., Gaspari F., Ferrari S., Stucchi N., Bossi A., Trevisan R., Remuzzi G., Parvanova A.

Glomerular resistances predict long-term GFR decline in type 2 diabetic patients without overt nephropathy: A longitudinal subgroup analysis of the DEMAND trial.

Acta Diabetologica 2022, 59(3), 309–317.

IF: 4.28

Cerullo D., Rottoli D., Corna D., Abbate M., Benigni A., Remuzzi G., Zoja C.

Add-On Cyclic Angiotensin-(1-7) with Cyclophosphamide Arrests Progressive Kidney Disease in Rats with ANCA Associated Glomerulonephritis.

Cells 2022, 11(15), 2434.

IF: 6.6

Consolaro E., Suter F., Rubis N., Pedroni S., Moroni C., Pastò E., Paganini M.V., Pravettoni G., Cantarelli U., Perico N., Perna A., Peracchi T., Ruggenenti P., Remuzzi G.

A Home-Treatment Algorithm Based on Anti-inflammatory Drugs to Prevent Hospitalization of Patients With Early COVID-19: A Matched-Cohort Study (COVER 2).

Front Med (Lausanne) 2022, 9:785785.

Conti S., Remuzzi G., Benigni A., Tomasoni S.

Imaging the Kidney with an Unconventional Scanning Electron Microscopy Technique: Analysis of the Subpodocyte Space in Diabetic Mice.

International Journal of Molecular Sciences 2022, 23(3), 1699.

IF: 6.208

Cortinovis M., Perico N., Ruggenenti P., Remuzzi A., Remuzzi G.

Glomerular hyperfiltration.

Nature Reviews Nephrology 2022, 18(7), 435–451.

IF: 42.439

Fakhouri F., Schwotzer N., Cabiddu G., Barratt J., Legardeur H., Garovic V., Orozco-Guillen A., Wetzels J., Daugas E., Moroni G., Noris M., Audard V., Praga M., Llurba E., Wuerzner G., Attini R., Desseauve D., Zakharova E., Luders C., Piccoli G. B.

Glomerular diseases in pregnancy: Pragmatic recommendations for clinical management.

Kidney International 2023, 103(2), 264–281.

IF: 18.998

Knoers N., Antignac C., Bergmann C., Daha, K., Giglio S., Heidet L., Lipska-Ziętkiewicz B. S., Noris M., Remuzzi G., Vargas-Poussou R., Schaefer F.

Genetic testing in the diagnosis of chronic kidney disease: Recommendations for clinical practice.

Nephrology Dialysis Transplantation 2022, 37(2), 239–254.

IF: 5.992

Lavecchia A. M., Pelekanos K., Mavelli F., Xinaris C.

Cell Hypertrophy: A “Biophysical Roadblock” to Reversing Kidney Injury.

Frontiers in Cell and Developmental Biology 2022, 10, 854998.

IF: 6.081

Leone V. F., Imeraj A., Gastoldi S., Mele C., Liguori L., Condemi C., Ruggenenti P., Remuzzi G., Carrara C.

Case Report: Tackling Complement Hyperactivation With Eculizumab in Atypical Hemolytic Uremic Syndrome Triggered by COVID-19.

Frontiers in Pharmacology 2022, 13, 842473.

IF: 5.988

Locatelli M., Macconi D., Corna D., Cerullo D., Rottoli D., Remuzzi G., Benigni A., Zoja C.

Sirtuin 3 Deficiency Aggravates Kidney Disease in Response to High-Fat Diet through Lipotoxicity-Induced Mitochondrial Damage.

International Journal of Molecular Sciences 2022, 23(15), 8345.

IF: 6.208

Locatelli M., Zoja C., Conti S., Cerullo D., Corna D., Rottoli D., Zanchi C., Tomasoni S., Remuzzi G., Benigni A.

Empagliflozin protects glomerular endothelial cell architecture in experimental diabetes through the VEGF-A /caveolin-1/ PV -1 signaling pathway.

The Journal of Pathology 2022, 256(4), 468–479.

IF: 4.373

Lv J, Wong M G, Hladunewich M, Jha V, Hooi L S, Monaghan H, Zhao M, Barbour S, Jardine M J, Reich H, Cattran D, Glasscock R, Levin A, Wheeler D, Woodward M, Billot L, Stepien S, Rogers K, Chan T M, Liu Z H, Johnson D W, Cass A, Feehally J, Floege J, Remuzzi G, Wu Y, Agarwal R, Zhang H, Perkovic V, TESTING Study Group

Effect of Oral Methylprednisolone on Decline in Kidney Function or Kidney Failure in Patients With IgA Nephropathy: The TESTING Randomized Clinical Trial.

JAMA 2022, 327(19), 1888.

IF: 157.335

Mantovani A., Morrone M.C., Patrono C., Santoro M.G., Schiaffino S., Remuzzi G., Bussolati G.; Covid-19 Commission of the Accademia Nazionale dei Lincei.

Long Covid: where we stand and challenges ahead.

Cell Death & Differentiation 2022, 29(10):1891-1900.

IF: 12.067

Morrone L., Palmer S. C., Saglimbene V. M., Perna A., Cianciolo G., Russo D., Gesualdo L., Natale P., Santoro A., Mazzaferro S., Cozzolino M., Cupisti A., Di Luca M., Di Iorio B., Strippoli G. F. M., the Mineral Metabolism Study Group of the Italian Society of Nephrology, Massimetti C., Pennacchiotti F., Mannarino A., Muci M. L.

Calcifediol supplementation in adults on hemodialysis: A randomized controlled trial.

Journal of Nephrology 2022, 35(2), 517–525.

IF: 3.902

Neuen B. L., Tighiouart H., Heerspink H. J. L., Vonesh E. F., Chaudhari J., Miao S., Chan T. M., Fervenza F. C., Floege J., Goicoechea M., Herrington W. G., Imai E., Jafar T. H., Lewis J. B., Li P. K.-T., Locatelli F., Maes B. D., Perrone R. D., Praga M., on behalf of CKD-EPI Clinical Trials.

Acute Treatment Effects on GFR in Randomized Clinical Trials of Kidney Disease Progression.

Journal of the American Society of Nephrology 2022, 33(2), 291–303.

IF: 14.978

Ruggenenti P., Caruso M. R., Cortinovis M., Perna A., Peracchi T., Giuliano G. A., Rota S., Brambilla P., Invernici G., Villa D., Diadei O., Trillini M., Natali G., Remuzzi G.

Fresh lemon juice supplementation for the prevention of recurrent stones in calcium oxalate nephrolithiasis: A pragmatic, prospective, randomised, open, blinded endpoint (PROBE) trial.

EClinicalMedicine 2022, 43, 101227.

IF: 17.033

Bollati M, Pegini K, Barone L, Natale C, Beeg M, Gobbi M, Diomede L, Trucchi M, De Rosa M, Pellegrino S

Rational design of a peptidomimetic inhibitor of gelsolin amyloid aggregation

Int J Mol Sci 2022; 23: 13973

IF: 6.208

Russo R, Romeo M, Schulte T, Maritan M, Oberti L, Barzago M M, Barbiroli A, Pappone C, Anastasia L, Palladini G, Diomede L, Ricagno S

Cu(II) binding increases soluble toxicity of amyloidogenic light chains

Int J Mol Sci 2022; 23: 950

IF: 6.208

Forloni G, La Vitola P, Balducci C

Oligomeropathies, inflammation and prion protein binding

Front Neurosci 2022; 16: 822420

IF: 5.152

Guffanti F, Alvisi M F, Anastasia A, Ricci F, Chiappa M, Llop-Guevara A, Serra V, Fruscio R, Degasperi A, Nik-Zainal S, Bani M R, Lupia M, Giavazzi R, Rulli E, Damia G

Basal expression of RAD51 foci predicts olaparib response in patient-derived ovarian cancer xenografts

Br J Cancer 2022 ; 126 : 120-128

IF: 9.075

Lupia M, Melocchi V, Bizzaro F, Lo Riso P, Dama E, Baronio M, Ranghiero A, Barberis M, Bernard L, Bertalot G, Giavazzi R, Testa G, Bianchi F, Cavallaro U

Integrated molecular profiling of patient-derived ovarian cancer models identifies clinically relevant signatures and tumor vulnerabilities

Int J Cancer 2022; 151: 240-254

IF: 7.316

Khalil A, Wurthwein G, Golitsch J, Hempel G, Fobker M, Gerss J, Moricke A, Zimmermann M, Smisek P, Zucchetti M, Nath C, Attarbaschi A, Von Stackelberg A, Gokbuget N, Rizzari C, Conter V, Schrappe M, Boos J, Lanvers-Kaminsky C

Pre-existing antibodies against polyethylene glycol reduce asparaginase activities on first administration of pegylated E. coli asparaginase in children with acute lymphocytic leukemia

Haematologica 2022; 107: 49-57

IF: 11.047

Ojeda-Fernandez M, Foresta A, Macaluso G, Colacioppo P, Tettamanti M, Zambon A, Genovese S, Fortino I, Leoni O, Roncaglioni M C, Baviera M

Metformin use is associated with a decrease in the risk of hospitalization and mortality in COVID-19 patients with diabetes: A population-based study in Lombardy

Diabetes Obes Metab 2022; 24: 891-898

IF: 6.408

Gallus S, Stival C, McKee M, Carreras G, Gorini G, Odone A, Van den Brandt P, Pacifici R, Lugo A

Impact of electronic cigarette and heated tobacco product on conventional smoking: an Italian prospective cohort study conducted during the COVID-19 pandemic

Tob Control 2022

IF: 6.953

Calamai I, Greco M, Finazzi S, Savi M, Vitiello G, Garbero E, Spina R, Montisci A, Mongodi S, Bertolini G, TUONO study investigators

Thoracic Ultrasonography reporting: The TUONO study

J Clin Med 2022; 11: 7126

IF: 4.964

Nattino G, Castiglioni S, Cereda Danilo, Della Valle P G, Pellegrinelli L, Bertolini G, Pariani E

Association between SARS-CoV-2 viral load in wastewater and reported cases, hospitalizations, and vaccinations in Milan, March 2020 to November 2021

JAMA 2022; 327: 1922-1924

IF: 157.335

Tessarollo V, Scarpellini F, Costantino I, Cartabia M, Canevini M P, Bonati M

Distance learning in children with and without ADHD: A case-control study during the Covid-19 pandemic

J Atten Disord 2022 ; 26 : 902-914

IF: 3.196

Pandolfini C, Clavenna A, Cartabia M, Campi R, Bonati M, NASCITA Work Group

National, longitudinal NASCITA birth cohort study to investigate the health of Italian children and potential influencing factors

BMJ Open 2022; 12: e063394

IF: 3.006

Mannucci P M, Nobili A, Tettamanti M, D'Avanzo B, Galbussera A A, Remuzzi G, Fortino I, Leoni O, Harari S

Impact of the post-COVID-19 condition on health care after the first disease wave in Lombardy

J Intern Med 2022; 292: 450-462

IF: 13.068

Mannucci P M, Nobili A, Tettamanti M, D'Avanzo B, Galbussera A A, Remuzzi G, Fortino I, Leoni O, Harari S

Progressive decrease of the healthcare impact of the post-COVID condition after the first disease wave in Lombardy, Italy

J Intern Med 2022; 292: 961-964

IF: 13.068

Consolaro E, Suter F, Rubis N, Pedroni S, Moroni C, Pastò E, Paganini M V, Pravettoni G, Cantarelli U, Perico N, Perna A, Peracchi T, Ruggenenti P, Remuzzi G

A home-treatment algorithm based on anti-inflammatory drugs to prevent hospitalization of patients with early COVID-19: A matched-cohort study (COVER2)

Front Med (Lausanne) 2022; 9: 785785

IF: 5.093

Remuzzi G, Schiaffino S, Santoro M G, FitzGerald G A, Melino G, Patrono C, COVID-19 Committee of the Lincei Academy

Drugs for the prevention and treatment of COVID-19 and its complications: An update on what we learned in the past 2 years

Front Pharmacol 2022; 13: 987816

IF: 5.988

Bandera A, Nobili A, Tettamanti M, Harari S, Bosari S, Mannucci P M, COVID-19 NETWORK WORKING GROUP

Clinical factors associated with death in 3044 COVID-19 patients managed in internal medicine wards in Italy: comment

Intern Emerg Med 2022; 17: 299-302

IF: 5.472

Rossio R, Tettamanti M, Nobili A, Harari S, Mannucci P M, Bandera A, Peyvandi F, COVID-19 NETWORK WORKING GROUP

Clinical risk scores for the early prediction of severe outcomes in patients hospitalized for COVID-19: comment

Intern Emerg Med 2022; 17: 303-306

IF: 5.472

Comelli M, Viero P, Bettini G, Nobili A, Tettamanti M, Galbussera A A, Muscatello A, Mantero M, Canetta C, Martinelli-Boneschi F, Arighi A, Brambilla P, Vecchi M, Lampertico P, Bonfanti P, Contoli M, Blasi F, Gori A, Bandera A, COVID-19 Network

Patient-reported symptoms and sequelae 12 months after COVID-19 in hospitalized adults: A multicenter long-term follow-up study

Front Med (Lausanne) 2022; 9: 834354

IF: 5.093

Bikbov B, Tettamanti M, Bikbov A, D'Avanzo B, Galbussera A A, Nobili A, Calamandrei G, Candini V, Starace F, Zarbo C, De Girolamo G

Willingness to share contacts in case of COVID-19 positivity-predictors of collaboration resistance in a nation-wide Italian survey

PLoS One 2022; 17: e0274902

IF: 3.752

Perico L, Morigi M, Galbussera M, Pezzotta A, Gastoldi S, Imberti B, Perna A, Ruggenenti P, Donadelli R, Benigni A, Remuzzi G

SARS-CoV-2 spike protein 1 activates microvascular endothelial cells and complement system leading to platelet aggregation

Front Immunol 2022; 13: 827146

IF: 8.786

Catania M, Colombo L, Sorrentino S, Cagnotto A, Lucchetti J, Barbagallo M C, Vannetiello I, Vecchi E R, Favagrossa M, Costanza M, Giaccone G, Salmona M, Tagliavini F, Di Fede G

A novel bio-inspired strategy to prevent amyloidogenesis and synaptic damage in Alzheimer's disease

Mol Psychiatry 2022; 27: 5227-5234

IF: 13.437

Violatto M B, Pasetto L, Casarin E, Tondello C, Schiavon E, Talamini L, Marchini G, Cagnotto A, Morelli A, Lanno A, Passoni A, Bigini P, Morpurgo M, Bonetto V

Development of a nanoparticle-based approach for the blood-brain barrier passage in a murine model of amyotrophic lateral sclerosis

Cells 2022; 11: 4003

IF: 6.6

Fiordaliso F, Bigini P, Salmona M, Diomede L

Toxicological impact of titanium dioxide nanoparticles and food-grade titanium dioxide (E171) on human and environmental health

Environ Sci Nano 2022; 9: 1199-1211

IF: 9.473

ATTIVITA' FORMATIVE 2022

NOME CORSO & DURATA	OBIETTIVI	STUDENTI FORMATI E REQUISITI RICHIESTI
<p>Specialista in Ricerca Biomedica</p> <p>3 anni</p>	<p>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.</p>	<p>1</p> <p>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.</p>
<p>Scuola Avanzata in Farmacologia Avanzata (SAFA)</p> <p>2 anni</p>	<p>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</p>	<p>1</p> <p>È 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.</p>

	<p>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).</p>	
<p>Corso di Perfezionamento in Scienze Farmacologiche (Dottorato di Ricerca)</p> <p>3 anni</p>	<p>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</p>	<p>3</p> <p>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.</p>

	<p>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</p>	
--	--	--

	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.	7 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 (dopo Istruttoria Principale, durante il 2022 aggiunti 2 eventi RES) - N° di eventi residenziali accreditati: 2

		<ul style="list-style-type: none"> - N° di crediti rilasciati per eventi residenziali: 564 - N° di eventi residenziali (FAD BLENDED) accreditati: 0 - N° di crediti rilasciati per eventi residenziali (FAD BLENDED): 0 - N° di partecipanti agli eventi residenziali: 42 - N° degli eventi di formazione sul campo attività di ricerca presentati all'accREDITamento: 38 (dopo Istruttoria Principale, durante il 2022 tolto 1 evento ed aggiunti 2 di FSC) - N° di eventi di formazione sul campo (attività di ricerca) accreditati: 39 - N° di crediti rilasciati per eventi di formazione sul campo (attività di ricerca): 15.160 - N° di partecipanti agli eventi di formazione sul campo: 1.528 - Partecipanti 2022: 1.570 → (39 progetti formazione sul campo e 2 eventi residenziali) -N° totale crediti: 15.724 → (39 progetti formazione sul campo e 2 eventi residenziali) <p>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,</p>
--	--	---

		terapista della neuro e psicomotricità dell'età evolutiva)
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 gruppo di ricerca ed è attivamente coinvolto nei progetti in corso, potendo così partecipare alla pianificazione, esecuzione e valutazione critica delle attività svolte.	0 a causa della pandemia (il corso doveva iniziare nel 2020 e terminare nel 2022) 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.
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.	0 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).

<p>Scientific writing academy 1 settimana</p>	<p>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 domande di partecipazione a bandi competitivi.</p>	<p>0 a Causa della pandemia</p> <p>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.</p>
<p>Corso per Summer Student 7 settimane</p>	<p>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.</p>	<p>14</p> <p>Il corso è rivolto a giovani interessati alla biomedicina che hanno terminato il quarto anno della scuola media superiore,</p>

<p>Alternanza Scuola Lavoro</p> <p>2 settimane</p>	<p>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.</p>	<p>1</p> <p>Il corso è rivolto a giovani interessati alla biomedicina che hanno terminato il quarto anno della scuola media superiore.</p>
---	---	--