ISTITUTO DI RICERCHE
FARMACOLOGICHE
MARIO NEGRI · IRCCS

REPORT ATTIVITÀ 2023

marionegri.it

Via Mario Negri, 2
20156, Milano

ISTITUTO DI RICERCHE FARMACOLOGICHE MARIO NEGRI · IRCCS

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 23
Selezione pubblicazioni scientifiche 2023	pag 117
Attività formative 2023	pag 134

Sede Legale
Mario Negri Milano
Via Mario Negri, 2 - 20156 Milano
Tel. +39 02 390141
mnegri@marionegri

Centro di Ricerche Cliniche per le Malattie Rare "Aldo e Cele Daccò"
Villa Camozzi
Via G.B. Camozzi, 3 -24020 Ranica (BG)
Tel. +39 035 45351
villacamozzi@marionegri.it

Centro Anna Maria Astori
Parco Scientifico Tecnologico Kilometro Rosso
Via Stezzano, 87 - 24126 Bergamo
Tel. +39 035 42131
bergamo@marionegri.it

marionegri.it

Fondazione per ricerche eretta in ente morale, D.P.R. 361 Del 5/4/1961 - Registro Persone Giuridiche Prefettura Milano N.227
Cod. Fisc. E Partita Iva 03254210150 - Anagrafe Nazionale Ricerche Cod.G1690099

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:

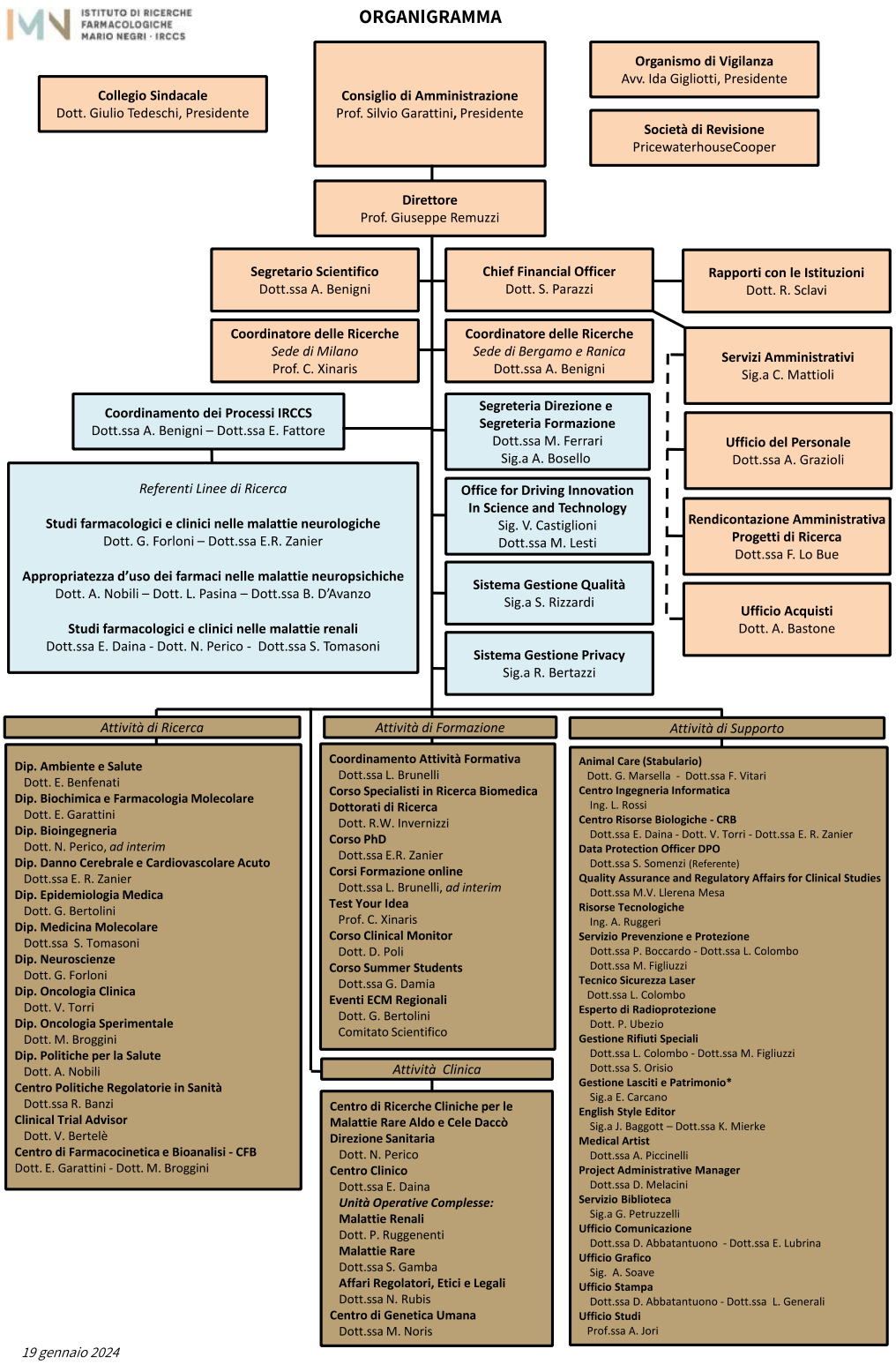
- la lotta contro il cancro
- le malattie nervose e mentali
- le malattie del cuore e dei vasi sanguigni
- le malattie renali
- i trapianti
- le malattie rare
- la salute pubblica
- gli effetti tossici delle sostanze che inquinano l'ambiente
- la lotta contro il dolore
- lo studio delle droghe
- la salute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



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 Danno Cerebrale e Cardiovascolare Acuto
5. Dipartimento di Medicina Molecolare
6. Dipartimento di Neuroscienze
7. Dipartimento di Oncologia Clinica
8. Dipartimento di Oncologia Sperimentale
9. Dipartimento di Epidemiologia Medica
10. Dipartimento di Politiche per la Salute
11. Centro Clinico
    a. Centro di Ricerche Cliniche
    b. Centro Genetica Umana

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. Sono studiati anche gli effetti dei farmaci diffusi nell'ambiente, 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 riscaldato, vapore delle sigarette elettroniche, sostanze chimiche, alcol e stili di vita, inclusi l'alimentazione e i nutrienti come fattori di rischio per lo sviluppo di malattie croniche
- 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 contaminati 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 caratterizzare la componente spaziale nelle analisi quantitative. Usata per studiare, ad esempio, la penetrazione di farmaci antitumorali negli xenotrapianti di tumori, 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 di Metaboliti e Proteine nella ricerca

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
- Sviluppo di nuovi agenti farmacologici in grado di modulare l'attività delle 15 proteine appartenenti alla famiglia dei recettori nucleari orfani al fine di sviluppare nuove strategie terapeutiche nell'ambito del trattamento personalizzato del cancro al seno e allo stomaco
- Identificazione di nuovi bersagli molecolari nell'ambito delle patologie mediate da proteine specifiche e identificate (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
- Studi mirati al disegno di strategie terapeutiche mirate al trattamento della Sindrome di Cornelia de Lange, una rara e grave patologia che colpisce la popolazione pediatrica
- Studi preclinici di nanomedicina mirati allo sviluppo di strategie terapeutiche innovative nel trattamento di patologie infiammatorie e fibrotiche polmonari ed epatiche mediante utilizzo di farmaci legati a sistemi di rilascio controllato
- Valutazione dell'effetto di nanomateriali innovativi ad uso industriale e di nano- e micro-plastiche da sorgente ambientali associati a potenziali rischi per l'apparato respiratorio e digerente.
- Studio degli eventi molecolari che modulano il processo di amiloidogenesi in vivo, mediante l'uso del nematode invertebrato C. elegans
- Studio dei meccanismi responsabili dello sviluppo di amiloidosi sistemiche rare, come l'amiloidosi da catene leggere delle immunoglobuline e l'amiloidosi da gelsolina, per lo sviluppo di nuove terapie farmacologiche
- Impiego di una piattaforma tecnologica per l'identificazione di nuovi farmaci antivirali, tramite studi farmacologici in vitro e in vivo, e studi biochimici, biofisici e computazionali
- Studi sul ruolo dell'alimentazione sui processi di malattia e invecchiamento
- Studio delle alterazioni mitocondriali in condizioni patologiche e del trapianto mitocondriale come strategia innovativa per il recupero della funzionalità mitocondriale
- Studio dei meccanismi di internalizzazione e della localizzazione intracellulare di nanoparticelle per uso terapeutico

- Sviluppo di nuovi approcci analitici per la misurazione delle concentrazioni di anticorpi terapeutici e, soprattutto, dei corrispondenti anticorpi anti-farmaco nel sangue e applicazione a studi preclinici e clinici
- Implementazione di una piattaforma, basata su tecniche innovative di intelligenza artificiale e biotecnologiche, per la progettazione, produzione e validazione di miniproteine di interesse terapeutico/diagnostico
- Sviluppo e applicazione di saggi analitici per lo studio di farmaci, biomarcatori e biomolecole in generale. Tali studi riguardano sia aspetti farmacodinamici, con particolare attenzione alle interazioni molecolari, che aspetti farmacocinetici in vivo, sia a livello preclinico che clinico
- Sviluppo di una piattaforma completa, accessibile e standardizzata che fornisca le competenze, gli strumenti e le risorse necessarie in tutte le fasi del percorso di repurposing dei farmaci
- Gestione dei dati nelle scienze della vita per una ricerca preclinica robusta e riproducibile e per l'implementazione dei principi FAIR (Findable, Accessible, Interoperable, and Reusable)

Laboratori

1. Laboratorio Biologia Molecolare
2. Laboratorio Patologia Umana in Organismi Modello
3. Laboratorio Trasduzione del Segnale
4. Laboratorio Farmacodinamica e Farmacocinetica
5. Laboratorio di Nanobiologia

DIPARTIMENTO DI BIOINGEGNERIA

Capo Dipartimento: Norberto Perico

Il Dipartimento di Bioingegneria svolge studi 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
- Sviluppare tecniche di laboratorio per l'ingegneria dei tessuti
- Studiare la citotossicità di micro e nanoparticolato derivante da sistemi frenanti
- Sviluppare e convalidare sistemi informativi per studi clinici controllati e pratica clinica
- Sviluppare tecniche di segmentazione e quantificazione di strutture anatomiche e lesioni patologiche su immagini diagnostiche in risposta a specifiche esigenze cliniche
- Identificare e validare nuovi biomarcatori di imaging
- Condurre la validazione clinica di nuove tecniche di imaging non invasive per lo studio della fisiologia e patofisiologia degli organi di interesse
- Studiare le alterazioni morfologiche ed emodinamiche in diversi distretti vascolari e il ruolo dell'emodinamica nello sviluppo del danno vascolare
- Studiare i meccanismi molecolari che determinano l'insorgere di stenosi negli accessi vascolari
- Studiare la relazione tra alterazione del suono e sviluppo di danno vascolare

Laboratori

1. Laboratorio di Medical Imaging
2. Laboratorio Ingegneria dei Tessuti per la Medicina Rigenerativa
3. Laboratorio Tecnologie Biomediche

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 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 e del cuore indotta da terapie renoprotettive o identificazione di cellule progenitrici
- Generazione di unità funzionanti di rene a partire da cellule embrionali isolate
- Generazione di cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC) da pazienti con malattie rare e sviluppo di protocolli differenziativi di iPSC verso un fenotipo renale
- Correzione di mutazioni geniche in iPSC di pazienti con malattie rare mediante tecnica CRISPR/Cas9
- Gene editing di iPSC mediante il sistema CRISPR/Cas9 per generare modelli di malattia
- Analisi dei meccanismi e dei fattori responsabili della perdita di tromboresistenza dell'endotelio nelle microangiopatie trombotiche
- Sviluppo di nuove strategie, tra cui la terapia cellulare, per modulare la risposta immunitaria post-trapianto e prevenire il rigetto acuto e cronico del trapianto d'organo; studio di possibili vie immunologiche che portino alla tolleranza dell'organo trapiantato
- Sviluppo di terapie cellulari e farmacologiche per rallentare la progressione della malattia renale diabetica in pazienti con diabete di tipo 2
- Studio delle alterazioni immunologiche in pazienti con malattie renali immuno-mediate tra le quali la nefropatia membranosa e la sindrome nefrosica idiopatica
- Sviluppo di organ-on-chip per riprodurre *in vitro* le funzioni di strutture umane complesse

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 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 Neurobiologia dei Prioni
2. Laboratorio Malattie Neurologiche
3. Laboratorio Neurochimica e Comportamento
4. Laboratorio di Fisiopatologia Muscolare
5. Laboratorio Biologia delle Malattie Neurodegenerative
6. Laboratorio Meccanismi Molecolari Malattie da Poliglutamine
7. Laboratorio Biomarcatori Traslazionali

8. Laboratorio di Neurobiologia e Terapia Preclinica

DIPARTIMENTO DI DANNO CEREBRALE E CARDIOVASCOLARE ACUTO

Capo Dipartimento: Elisa Zanier

Il Dipartimento di Danno Cerebrale e Cardiovascolare Acuto studia condizioni cliniche quali l'epilessia, il trauma cranico, l'ictus e l'infarto miocardico con l'obiettivo di migliorarne il decorso clinico e la prognosi.

Il danno cerebrale/cardiaco acuto associato a queste condizioni porta a grave disabilità cronica cognitiva e/o motoria e/o manifestazione di crisi epilettiche in un'alta percentuale di pazienti.

Sviluppare terapie per questi pazienti è, dunque, una priorità.

Obiettivi

Obiettivo del Dipartimento è quello di sviluppare modelli preclinici ed intensificare l'interazione il confronto tra attività di laboratorio e cliniche, al fine di:

- descrivere i meccanismi patogenici delle malattie cardiovascolari e cerebrali acute, definire gruppi di pazienti e identificare potenziali bersagli farmacologici;
- sviluppare terapie per il danno cardiovascolare e cerebrale acuto e per le conseguenze croniche;
- realizzare una biobanca preclinica con l'obiettivo di identificare biomarcatori o esplorare nuovi meccanismi, riducendo l'uso di animali per la ricerca;
- contribuire alla formazione scientifica di nuovi ricercatori di base e di clinici.

Laboratori

1. Laboratorio di Trauma Cranico e Neuroprotezione
2. Laboratorio di Epilessia e Strategie Terapeutiche
3. Laboratorio di Ictus e Disfunzioni Vascolari
4. Laboratorio di Farmacologia Clinica Cardiovascolare
5. Laboratorio di Fisiopatologia Cardiovascolare

DIPARTIMENTO DI ONCOLOGIA CLINICA

Capo Dipartimento: Valter Torri

L'obiettivo del Dipartimento di Oncologia Clinica è di ottimizzare le strategie terapeutiche attualmente in uso nella pratica clinica e rendere più efficaci le terapie per la cura dei tumori attraverso studi che approfondiscano gli aspetti molecolari, biologici e farmacologici non tralasciando i limiti dei trattamenti stessi (ad esempio attraverso lo studio e il monitoraggio degli effetti collaterali). Lo scopo finale è arrivare ad applicazioni cliniche in grado di migliorare la sopravvivenza e la qualità della vita di pazienti oncologici. L'obiettivo viene perseguito tramite lo studio della metodologia e la sua applicazione negli studi clinici e la produzione di raccomandazioni per la pratica clinica.
I progetti seguiti dal Dipartimento riguardano diversi tipi di neoplasie, però la maggioranza degli studi si focalizza sui tumori ginecologici, sui sarcomi, sui tumori toracici (polmone, mesoteliomi e timomi) e sui tumori del tratto gastro-intestinale (colon-retto, pancreas).

Obiettivi

- 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.
- Fornire supporto metodologico per il disegno, la progettazione, l'approvazione regolatoria, la conduzione, le analisi statistiche e il reporting degli studi clinici
- Studiare nuove combinazioni di farmaci e di regimi di trattamenti multimodali
- Ottimizzare l'utilizzo di farmaci, anche off-label, e strategie terapeutiche mirato al miglioramento della normale pratica clinica
- Partecipare in maniera attiva ai corsi di formazione per quanto riguarda la metodologia della ricerca clinica e la statistica

Laboratori

- Laboratorio Metodologia delle Revisioni Sistematiche e Produzione di Linee Guida
- Laboratorio Metodologia per la Ricerca Clinica

DIPARTIMENTO DI ONCOLOGIA SPERIMENTALE

Capo Dipartimento: Massimo Broggini

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.

Obiettivi

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 risposta a specifiche terapie antitumorali
- studiare la biologia dei tumori, e cioè i pathways responsabili della loro crescita, della loro neo-angiogenesi, della metastatizzazione e della loro interazione con la risposta immunitaria
- studiare il meccanismo d'azione e le 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 di Oncologia Ginecologica Preclinica
6. Unità di Oncologia Computazionale
7. Unità di Immunofarmacologia

DIPARTIMENTO DI EPIDEMIOLOGIA MEDICA

Capo Dipartimento: Guido Bertolini

La ricerca del Dipartimento di Epidemiologia Medica è mirata a comprendere i fattori che influenzano la salute dei singoli e 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 valutazione della qualità dell'assistenza, per migliorare costantemente la cura dei pazienti, dall'altro alla prevenzione, al fine di ridurre i rischi di contrarre malattie con interventi sempre più precoci.

Obiettivi

- Informazione, formazione e confronto degli operatori sanitari e sociali, della popolazione e delle sue rappresentanze
- Miglioramento dell'assistenza sanitaria in diversi ambiti disciplinari attraverso raccolte multicentriche di dati
- Studio e applicazione di tecnologie per la raccolta ed analisi dati nei reparti di Terapia Intensiva
- Valutazione dei percorsi diagnostico-terapeutici dei bambini con patologie croniche (asma, epilessia, disturbi neuropsichiatrici)
- Studio dei principali fattori di rischio evitabili per tumori, malattie cardiovascolari e altre malattie (in particolare COVID-19) o disabilità (come l'acufene)

Laboratori

1. Laboratorio di Epidemiologia Clinica
2. Laboratorio Ricerca per il Coinvolgimento dei Cittadini in Sanità
3. Laboratorio di Clinical Data Science
4. Laboratorio di Epidemiologia dell'età evolutiva
5. Laboratorio di Ricerca sugli Stili di Vita
6. Unità di Informatica per la condivisione della conoscenza clinica

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 la relazione tra alimentazione e salute planetaria
- 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

CENTRO DI RICERCHE CLINICHE PER LE MALATTIE RARE "ALDO E CELE DACCÒ

Il Centro - situato a Ranica, in provincia di Bergamo - è nato nel 1992 con l'intento di promuovere la ricerca clinica indipendente. All'inizio della propria attività offriva soprattutto informazioni per i pazienti affetti da malattie rare che soffrivano della scarsità di notizie e di cultura medica.
Nel corso degli anni, pur continuando a svolgere questa attività di servizio, il Centro Daccò si è sempre più configurato come struttura sanitaria dedicata alla conduzione e al coordinamento di studi clinici nel settore delle malattie rare e delle malattie renali. In questo ambito sono oggetto di studi la nefropatia diabetica, le malattie renali croniche proteinuriche diabetiche e non diabetiche, le microangiopatie trombotiche, le malattie renali non-proteinuriche con particolare riferimento al rene policistico. Alcuni studi sono poi rivolti ad approfondire tematiche relative alla minimizzazione della terapia immunosoppressiva nel trapianto di rene e alla induzione di tolleranza immunologica all'organo trapiantato mediante terapia con cellule mesenchimali stromali.
Dal Dicembre 2001 è stato riconosciuto come Centro di Coordinamento della Rete Regionale Malattie Rare della Lombardia (DGR N° VII/7328 del 11/12/2001).
Nel marzo 2009 il Centro Daccò è stato accreditato dalla Regione Lombardia e da allora svolge attività di diagnostica nell'ambito del Servizio Sanitario Nazionale (SSN) per alcune malattie rare.

Struttura

Centro Clinico
Attrezzato con strutture dedicate che consentono di seguire direttamente gli ammalati nell'ambito del percorso di definizione diagnostica e della sperimentazione clinica. Le attività si articolano grazie all'implementazione di tre Unità Operative Complesse:

- Unità Operativa Complessa malattie renali
- Unità Operativa Complessa malattie rare
- Unità Operativa Complessa per gli aspetti regolatori, etici e legali

Il Centro realizza trial clinici per testare l'efficacia di nuovi approcci terapeutici, sia direttamente - coinvolgendo pazienti accolti in sede - sia svolgendo un ruolo di coordinamento per studi multicentrici nazionali e internazionali.

Nella sua attuale configurazione comprende un Poliambulatorio, una sezione di Day hospital che dispone di 10 posti letto e un Servizio di Medicina di Laboratorio (SMeL) Generale di Base. Alcune delle attività si avvalgono di una stretta collaborazione con l'Azienda Socio-Sanitaria Territoriale (ASST) Papa Giovanni XXIII e con l'ASST di Bergamo Est.

Centro di Genetica Umana
Si occupa di sviluppare progetti multidisciplinari di ricerca per identificare le cause genetiche di diverse malattie e caratterizzarne le conseguenze a livello molecolare e cellulare.

Gli obiettivi sono:

- ampliare la comprensione dei meccanismi patogenetici,
- migliorare la diagnosi
- individuare terapie mirate.

Le attività si articolano attraverso:

- Unità di Genetica e Basi Molecolari delle Malattie Renali
- Unità di Diagnostica Genomica e Molecolare

RELAZIONE SULLE PRINCIPALI ATTIVITÀ DI RICERCA DELL'ISTITUTO MARIO NEGRI

I NUMERI DELLA RICERCA 2023

189	**492**	**4633**
PROGETTI DI RICERCA ATTIVI	PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE	IMPACT FACTOR TOTALE*

ATTIVITA' DI RICERCA NELL'AMBITO DELLE NEUROSCIENZE

Nell'ambito degli studi Neurologici, alcuni dei risultati più rilevanti sono riassunti di seguito.

- ***Studio dei meccanismi di malattia e possibili approcci terapeutici nei modelli sperimentali. In questo ambito, gli esempi di eccellenza riguardano***

i. la definizione del ruolo della neuroinfiammazione nell'insorgenza e nella progressione di eventi patologici acuti e cronici (Forloni, Int J Mol Sci. 2023, PMID: 36982988).

ii. Con uno studio longitudinale In un modello sperimentale di Alzheimer (AD) è stata dimostrata una stretta correlazione tra la progressione della patologia l'attivazione di JNK (c-Jun-N-terminal kinases) una categoria di proteine coinvolta nei meccanismi di sopravvivenza neuronale. L'attivazione di JNK è associata ad un'alterazione della densità sinaptica e al danno cognitivo, queste evidenze supportano l'idea di JNK come un possibile target terapeutico in AD (Priori et al Cells 2023, PMID: 36980245). Sempre in ambito AD è in corso uno studio per lo sviluppo di un approccio radioterapico innovativo nel campo dell'AD, considerando l'urgente necessità di sviluppare approcci più efficaci (Imbimbo et al, Neural Regen Res.2023 PMID: 35799522).

iii. La doxiciclina un farmaco antibiotico con diverse altre attività farmacologiche si è dimostrato efficace nel ridurre il danno cognitivo e gli effetti neuropatologici in un modello sperimentale di Parkinson, l'effetto terapeutico era associato ad una riduzione di della presenza cerebrale di piccoli aggregati solubili (oligomeri) di α-sinucleina (La Vitola et al., Parkinsonism Relat Disord,2023, PMID: 36462409).

iv. l'utilizzo di modelli in vitro, ex vivo e in vivo di malattie da prioni per comprenderne i meccanismi patogenetici e valutare potenziali terapie. Abbiamo individuato un composto con una duplice attività anti-prionica che apre nuove prospettive terapeutiche per queste malattie (Masone et al, 2023).

v. Sviluppo di modelli di trauma cranico per comprendere i meccanismi di danno cerebrale e sviluppare strategie neuroprotettive. In una percentuale non irrilevante di casi, un trauma cranico lieve ma ripetuto, tipico di alcuni sport da contatto, può causare deficit neurologici persistenti o addirittura progressivi. Abbiamo sviluppato un modello sperimentale di trauma cranico sportivo che fedelmente mima questi aspetti e dimostrato che la misurazione acuta (a 7 giorni) di una proteina nel sangue, chiamata neurofilamento leggero, può predire il danno neurologico e anatomico cronico osservato un anno dopo il trauma. Questi dati mostrano che con un semplice prelievo di sangue si possono avere informazioni sulla suscettibilità del cervello ad un secondo impatto, guidando scelte di prevenzione secondaria (Moro et al, 2023 – premio giovani ricercatori per il miglior articolo della rivista J of Neurotrauma, 2023). Dopo un trauma cranico grave, una percentuale significativa di pazienti va incontro a progressivo declino cognitivo con evidenza di depositi cerebrali della proteina tau simili a quelli presenti nei cervelli dei pazienti affetti da alcune malattie degenerative. Nei modelli di trauma cranico, abbiamo dimostrato che la somministrazione di un peptide, sviluppato nei nostri laboratori, in grado di attenuare l'aggregazione della proteina tau, inibisce la formazione di aggregati tossici di tau e migliora la memoria (Diomede et al, 2023). Infine abbiamo sviluppato un modello di trauma cranico in vitro, ideale per testare rapidamente farmaci e strategie neuroprotettive (Pischiutta et al., Front Cell Neurosc, 2023).
vi. lo sviluppo di un modello tridimensionale in vitro di ischemia cerebrale, basato sull'utilizzo di organoidi corticali umani derivati da cellule staminali pluripotenti indotte. Gli organoidi sottoposti a danno ischemico (deprivazione di ossigeno e glucosio) hanno mostrato la morte dei neuroni e un deterioramento della complessità della rete neuronale, aspetti fondamentali del danno cerebrale post-ischemico, rendendo il modello rilevante per lo studio di strategie neuroprotettive (De Paola et al, J Cereb Blood Flow Metab 2023, PMID: 37990971).
vii. lo sviluppo di nuovi approcci sperimentali per lo studio dell'ictus ischemico. Abbiamo condotto uno studio preclinico randomizzato controllato (pRCT) multicentrico (studio TRICS), al fine di favorire la riproducibilità e la trasferibilità della ricerca preclinica sull'ictus. Attraverso una fase di formazione e armonizzazione del personale valutatore di 7 centri italiani, abbiamo implementato e standardizzato un sistema di punteggio neurologico per la valutazione della gravità del danno post-ischemico. Il nostro studio è il primo progettato specificamente per aumentare la affidabilità della valutazione neuro-comportamentale come endpoint primario negli studi pRCT (Valente et al. JCBFM 2023).
viii. la dimostrazione di un effetto terapeutico indotto da farmaci antiinfiammatori in grado di interferire con la risposta di immunità innata ed infiammatoria in modelli di epilessia, come la sindrome di Rasmussen (Arcan A, J Neurol, 2023) ed in modelli di "new onset refractory status epilepticus" (NORSE) (Cerovic M, Front Neurol 2023). Abbiamo approfondito i meccanismi neuroinfliammatori e la neuropatologia associate alla condizione clinica del NORSE (Hanin A, J Neurol, 2023; Vezzani A, Epilepsy Behav, 2023). Infine, nell'ambito della ricerca dei marcatori prognostici dello sviluppo di epilessia acquisita, abbiamo identificato delle alterazioni elettroncefalografiche precoci che con elevata sensibilità e specificità prevedono lo sviluppo della epilessia dopo un danno cerebrale traumatico (Di Sapia R, Neurobiol Dis, 2023).

ix. Abbiamo fornito ulteriori evidenze a sostegno dell'ipotesi che i meccanismi alla base della mobilizzazione e del reclutamento dei macrofagi a livello muscolare possa rappresentare una delle discriminanti biologiche in grado di definire la velocità di progressione della sclerosi laterale amiotrofica (SLA). Attraverso lo studio di due modelli murini geneticamente modificati di SLA che si differenziano per la progressione lenta e veloce della malattia abbiamo messo in evidenza che i topi con progressione più lenta mostrano denervazione e atrofia muscolare precoce, ma attivano meccanismi compensatori che ritardano l'esordio e lo sviluppo dei sintomi. Al contrario, nei topi con progressione rapida, la denervazione e atrofia muscolare sono seguite da un'immediata e rapida sintomatologia. Il confronto dei muscoli ha rivelato che la rigenerazione muscolare e l'aumento della risposta della placca neuromuscolare sono fondamentali nel rallentare la malattia e questo fenomeno è mediato da una risposta macrofagica precoce a livello muscolare (Margotta et al. 2023). Abbiamo inoltre osservato che un trattamento intramuscolare con la citochina IL-10, un potente fattore immunomodulatore, nei topi affetti da SLA ha ritardato l'atrofia muscolare potenziando le cellule staminali muscolari, e l'attività pro-rigenerativa dei macrofagi nel muscolo migliorando le prestazioni motorie di questi topi (Fabbrizio et al 2023).

x. 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 (Bondi D. et al., Mol Genet Metab 2023). Sono in corso studi per comprendere il collegamento tra le molecole che abbiamo dimostrato essere importanti nella progressione dell'atrofia muscolare indotta da cancro 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, e la sindrome di Marinesco-Sjögren). 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 e anche per confermare la differenza di genere nella cachessia tumorale che abbiamo rilevato in più modelli. La tecnologia MyoRep l'abbiamo anche recentemente usata per confermare come il trattamento con musclin sia in grado di ridurre l'atrofia muscolare in modelli animali con tumore o con SLA.

xi. 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.

xii. Abbiamo collaborato a uno studio multicentrico di neuroimanging nel ratto che ha portato alla definizione di un protocollo standardizzato che migliora i modelli di connettività

funzionale rispetto a quelli già esistenti e che permetterà di studiare alterazioni funzionali nell'ambito di malattie neurologiche (Grandjean et al, Nat Neurosci. 2023, PMID: 36973511).

- ***Disegno e coordinamento di studi clinici di fase II, III e IV. In quest'ambito l'Istituto Mario Negri:***

i. Coordina lo studio preventivo con doxiciclina in soggetti geneticamente a rischio per lo sviluppo dell'Insonnia Fatale Familiare, lo studio che prevedeva la valutazione dell'incidenza nell'arco di dieci anni è in fase conclusiva.
ii. È promotore/coordinatore di studi indipendenti nazionali ed internazionali sull'appropriatezza di strategie terapeutiche nel campo dell'epilessia. In particolare, nall'ambito della condizione clinica "NORSE" (new onset refractory status epilepticus") sono state identificate le procedure operative standard per la raccolta di campioni biologici per la creazione di una biobanca che permetta di studiare meccanismi e nuovi trattamenti (Hanin A, Epilepsia, 2023).
iii. Ha coordinato (CREACTIVE) e partecipato 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 (Li LM et al, 2023; Zoerle T et al, 2023; Graham N et al, 2023).
iv. E' coordinatore dello studio clinico di fase II "MATRIx" volto a verificare la sicurezza e l'attività biologica del trattamento acuto (entro 48h dal trauma) con cellule mesenchimali stromali in pazienti con trauma cranico grave (Zanier et al., Intensive Care Med Exp 2023).
v. Ha coordinato lo studio "Treat_CMM" volto ad analizzare se il trattamento cronico con il propranololo fosse in grado di ridurre la gravità delle lesioni cerebrovascolari e gli eventi clinici e sintomatologici nei pazienti con Malformazione Cavernosa Cerebrale (Lanfranconi et al., The Lancet Neurology, 2023; Incerti I, Eur Radiol, 2023; Lazzaroni F, eBiomedicine, 2023).

- ***Epidemiologia delle malattie neurologiche.***

i. 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) e sono in corso ulteriori approfondimenti. È in corso uno studio volto a 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 2023 si è conclusa la raccolta dati, 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. In seguito agli interessanti risultati ottenuti (Sassi S 2023), nel 2023 è stato preparato un nuovo protocollo di clinical trial di fase 2/3 volto ad indagare quale sia il dosaggio migliore da somministrare

ai pazienti, l'effetto del trattamento a medio-lungo termine sia su parametri funzionali che biologici che sulla sopravvivenza. Il reclutamento inizia nei primi mesi del 2024. In ambito epidemiologico stiamo svolgendo diverse indagini sui fattori di rischio e protettivi, non che mantenendo sempre attivo il registro regionale SLA.

ii. 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 obbiettivo 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 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.

iii. È stata condotta una revisione della letteratura sullo stato vegetativo persistente (Tinti L 2023). Inoltre abbiamo svolto 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. I dati sono stati completati nel 2023 ed ora è in corso la fase di elaborazione dati e scrittura del manoscritto finale.

iv. 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).

v. 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.

vi. 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.

vii. 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 razionale 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.

viii. 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).

ix. 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 sostenuto dalla Regione Toscana.

x. 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.

- Il Laboratorio di Patologia Umana in Organismi Modello e il Laboratorio di Farmacocinetica e Farmacodinamica studiano il processo patogenetico alla base di numerose patologie associate ad un'alterazione dei meccanismi che regolano l'assemblamento e il traffico delle proteine a livello cellulare. La conseguente formazione e l'accumulo di aggregati proteici, chiamati depositi di amiloide, induce un processo degenerativo nelle cellule e nei tessuti in cui si depositano. Alcune di queste malattie, definite amiloidosi centrali, sono responsabili di patologie neurodegenerative molto diffuse, come la malattia di Alzheimer, ma per nessuna di esse esiste attualmente una terapia efficace. Il progetto di ricerca prevede lo svolgimento di studi biochimici e biofisici per la descrizione degli eventi molecolari che modulano il processo di amiloidogenesi *in vitro* e *in vivo* con lo scopo di identificare nuovi target rilevanti per il disegno di strategie terapeutiche efficaci. Per gli studi *in vivo* viene utilizzato il C. elegans in quanto esso permette di correlare il processo degenerativo associato alla proteotossicità indotta dalla proteina amiloidogenica con i suoi livelli di espressione, il suo stato di aggregazione nonché l'espressione di geni che possono essere attivamente coinvolti nelle diverse fasi della malattia. Questo organismo è più vicino all'uomo di quanto si possa immaginare. Il 60% dei suoi geni sono omologhi a quelli umani e molti dei geni coinvolti nello sviluppo e nell'organizzazione del sistema nervoso presenti in C. elegans, sono conservati nell'uomo. Questo nematode conserva anche molti dei sistemi di reazione allo stress presenti nei mammiferi e ciò lo rende un sistema rapido e versatile per ricapitolare i meccanismi molecolari alla base di malattie complesse. Almeno il 42% dei geni correlati alle malattie umane hanno un gene ortologo in C. elegans, suggerendo che la maggior parte delle vie biochimiche sono state conservate attraverso l'evoluzione. Infine, essendo un animale invertebrato, il suo utilizzo permette di superare, almeno in parte, i problemi di natura etica legati alla sperimentazione animale. Attualmente sono disponibili diversi ceppi transgenici che esprimono, in modo costitutivo o inducibile, vari frammenti della proteina β-amiloide umana, nella forma wild-type o mutata, nei neuroni o nel muscolo. Sono stati generati anche vermi transgenici che esprimono diverse isoforme di proteina tau responsabili della patogenesi delle demenze frontotemporali, un gruppo eterogeneo di malattie neurodegenerative che fa parte della più grande famiglia delle cosiddette tauopatie. -Dipto Biochimica

ATTIVITA' DI RICERCA NELL'AMBITO DEL DANNO CARDIOVASCOLARE

Nell'ambito della ricerca Cardiovascolare, gli studi di eccellenza con alcuni dei risultati più rilevanti sono riassunti di seguito.

- ***Studio dei meccanismi di malattia e possibili approcci terapeutici nei modelli sperimentali di arresto cardiaco e rianimazione cardiopolmonare***

i. L'arresto cardiaco colpisce ogni anno più di 350.000 persone negli Stati Uniti e 700.000 in Europa. Tra coloro che sono rianimati con successo, più del 60% muore in terapia intensiva. Fino ad ora, nessun trattamento si è dimostrato efficace nel migliorare l'esito della rianimazione cardiopolmonare e della fase post arresto cardiaco. I gas nobili possiedono proprietà cardio e neuro-protettive dopo eventi ischemici. Nei nostri laboratori abbiamo dimostrato gli effetti neuroprotettivi della ventilazione con una miscela di argon e ossigeno (70% Argon, 30% Ossigeno) dopo arresto cardiaco in un modello preclinico nel maiale (Fumagalli F, J Am Heart Assoc, 2020). Attualmente, sono in corso nuovi studi per valutare l'effetto cardioprotettivo dell'argon in un modello di arresto cardiaco nel ratto.

ii. Nel modello di arresto cardiaco e rianimazione cardiopolmonare nel maiale, abbiamo dimostrato l'effetto neuroprotettivo della miscela di Argon somministrato in associazione all'idrogeno. La combinazione dei due gas è in grado di ridurre il danno neuronale e la neuroinfiammazione negli animali che sopravvivono dopo arresto cardiaco (Motta F, J Am Assoc. in press). Sono tuttavia necessari ulteriori studi per confermare quanto osservato e per stabilire quale regime terapeutico potrebbe risultare clinicamente più efficace.

iii. Nel modello murino di arresto cardiaco, abbiamo studiato il ruolo del pathway delle chinurenine la principale via del metabolismo del triptofano. Abbiamo dimostrato che l'inibizione genetica del pathway delle chinurenine induce una miglior sopravvivenza e ad un miglior esito neurologico dopo arresto cardiaco, associati ad un minor danno neuronale ed una migliore preservazione dei fasci di sostanza bianca nel cervello. Tali dati fanno emergere il pathway delle chinurenine come possibile target per prevenire il danno cerebrale conseguente all'arresto cardiaco (Magliocca A, Anesthesiology, 2023).

- ***Disegno e coordinamento di studi clinici osservazionali ed interventistici***

i. Studio AMSA. L'obiettivo primario dello studio AMSA è stato quello di determinare in modo prospettico se una rianimazione cardiopolmonare guidata dall'analisi dell'onda di fibrillazione ventricolare sul tracciato elettrocardiografico potesse ottimizzare i tempi di erogazione della defibrillazione stessa, aumentando il successo della rianimazione. Lo studio ha dimostrato che le procedure di rianimazione guidate dall'analisi dell'onda elettrocardiografica sono applicabili; tuttavia, successivi studi sono necessari per dimostrare l'efficacia di questo tipo di approccio nel migliorare il successo della rianimazione (Ruggeri L, eBiomedicine 2023; Meessen JMTA, J Clin Anesth, 2023).

ii. Care-in-Health. Questo studio è nato per identificare il contributo dei lipidi nella risoluzione dell'infiammazione vascolare cronica al fine di diagnosticare, prevenire e trattare le malattie cardiovascolari. Dalla misurazione del profilo lipidico deriverà la creazione di un algoritmo

lipidico. Lo studio randomizzato e controllato, RESOLVIN, valuterà l'utilità dell'algoritmo lipidico, nonché l'effetto degli N3-PUFA di origine animale e vegetale sull'algoritmo lipidico (Bäck M, Eur Heart J Open. 2023).

iii. CPAr. Questo studio di fase 1 è il primo studio sull'uomo che valuta la fattibilità e la sicurezza della dell'implementazione nella pratica clinica della ventilazione polmonare con una miscela di gas Argon (Ar) e ossigeno (O2) nei pazienti rianimati da arresto cardiaco. Lo studio, già attivo lo scorso anno all'ospedale Maggiore Policlinico di Milano, quest'anno ha visto il coinvolgimento di ulteriori tre unità di Terapia Intensiva: IRCCS San Gerardo dei Tintori (Monza), Ospedale Gemelli (Roma) e Ospedali Riuniti (Ancona). In totale sono stati inclusi nello studio 24 pazienti di cui 20 nel 2023. I primi campioni sono stati inseriti nella biobanca.

iv. iCARE4CVD. L'ambizione generale di questo studio è quella di rallentare la progressione delle malattie cardiovascolari (CVD) attraverso l'integrazione degli strumenti di previsione del rischio con approcci preventivi e interventistici. Questo progetto riunirà oltre 40 gruppi ben caratterizzati e dati provenienti da progetti di ricerca su larga scala. Combinando le competenze di oltre 30 organizzazioni pubbliche e private, iCARE4CVD sarà nella posizione ideale per unificare i diversi set di dati e andare oltre i modelli attuali che in gran parte si fermano alla previsione del rischio ma difficilmente forniscono strumenti pratici per ridurlo. Il risultato principale di iCARE4CVD sarà l'implementazione di strategie personalizzate basate sull'intelligenza artificiale per percorsi di cura orientati al paziente su diagnostica, modelli di rischio e previsione della risposta al trattamento. Nel 2023 è partito il progetto e si sono svolti i primi incontri organizzativi.

v. REBOOT è uno studio clinico indipendente italo-spagnolo pragmatico, controllato, randomizzato, che valuta i benefici della terapia di mantenimento con β-bloccanti nei pazienti con infarto miocardico post-acuto dimessi con frazione di eiezione >40%. Nel 2023 in Italia sono stati inclusi 173 pazienti, per un totale di 1871 pazienti randomizzati, vicino al numero target di 1908.

vi. ALBIOSS-Balanced. Questo studio testa l'efficacia dell'albumina e delle soluzioni cristalloidi bilanciate a basso contenuto di cloruro nello shock settico. Lo scopo principale del progetto è duplice: (1) valutare se l'albumina in aggiunta ai cristalloidi rispetto ai soli cristalloidi riduce la mortalità a 90 giorni (2) e se le soluzioni bilanciate riducono la mortalità a 90 giorni e/o l'incidenza di danno renale acuto rispetto alla soluzione salina normale. Lo studio mira anche a creare una biobanca, per aiutare la diagnosi, la prognosi e per chiarire la risposta ai trattamenti applicati durante lo shock settico. Nel 2023 abbiamo aperto l'ultimo dei 37 centri clinici che arruolano pazienti e abbiamo incluso 309 pazienti critici. Il numero totale dei pazienti inclusi nello studio ammonta a 1319. Sono stati raccolti e inseriti nella biobanca oltre 2600 campioni biologici (Catalisano G, Pulmonology, 2023).

- L'unità di Bio-imaging si occupa dello studio delle alterazioni mitocondriali associate a condizioni patologiche, utilizzando modelli in vivo ed ex-vivo. Sono state descritte, tramite analisi morfologiche e funzionali, le alterazioni dei processi coinvolti nell'integrità mitocondriale sia a livello miocardico che neurologico, associate ad arresto cardiaco seguito

da rianimazione cardiopolmonare. Inoltre, nei xenotrapianti derivati da pazienti e in linee cellulari di tumore ovarico resistenti al cisplatino, è stata osservata la condensazione della matrice periferica mitocondriale, la cristolisi e il rigonfiamento massivo dei mitocondri, ad indicare che l'alterazione mitocondriale è coinvolta nella resistenza tumorale.

- Un'altra condizione patologica associata ad alterazione mitocondriale è il danno indotto da ischemia e riperfusione che avviene negli organi destinati al trapianto durante le fasi di espianto e conservazione. Il trasferimento di mitocondri sani è stato recentemente suggerito come una possibile strategia per ridurre il danno e accelerare il recupero, sostenendo la produzione di energia cellulare, mitigando gli effetti negativi dello stress ossidativo e migliorando la conservazione dell'organo. In collaborazione con l'Università di Udine stiamo studiando la sicurezza e l'efficacia del trapianto cardiaco di mitocondri contenuti in vescicole extracellulari in un modello animale di insufficienza cardiaca avanzata e verificheremo se è possibile ottenere l'innesto di mitocondri in cuori espiantati da pazienti affetti da cardiopatia ischemica. Stiamo inoltre sviluppando, in collaborazione con il Laboratorio di Nanobiologia e il Laboratorio di Patologia Umana in Organismi Modello, un approccio innovativo per il trapianto di mitocondri sani in fegati destinati al trapianto che possa limitare il danno da ischemia e riperfusione migliorando così la conservazione dell'organo.

- Ruolo dell'emodinamica nel danno cardiovascolare. Il dipartimento di Bioingegneria dedica la linea di ricerca *imaging nella biforcazione carotidea allo* studio del moto del sangue in modelli di carotidi sane e stenotiche. La nuova tecnica di imaging Vector Flow permette uno studio approfondito dell'emodinamica nella biforcazione carotidea con una semplice ecografia, ma questa tecnica potrà essere applicata nella routine clinica solo in seguito ad una accurata validazione. Un confronto con le nostre tecniche di fluidodinamica computazionale in modelli di carotidi ci ha permesso di mostrare che il Vector Flow Imaging fornisce una corretta e dettagliata visualizzazione delle porzioni vascolari caratterizzate da flusso sanguigno instabile. Ci proponiamo di contribuire all'ottimizzazione e validazione della nuova tecnica ecografica per favorirne l'ingresso nella pratica clinica.

- Valutazione dei percorsi assistenziali di soggetti a rischio cardiovascolare (**EPIFARM**). La finalità principale di questo progetto del laboratorio di prevenzione cardiovascolare, 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 cardio-renali, con particolare attenzione ai pazienti diabetici, soggetti ad alto rischio di complicanze cardiovascolari e mortalità rispetto alla popolazione generale. 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.

- Lo studio **SKIM**, progetto nell'ambito della prevenzione cardiovascolare primaria, in Medicina Generale, è un 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. Lo studio è attualmente in corso e si concluderà a settembre 2024.

- 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 era di 1000 pazienti, seguiti per un anno dall'inizio dell'inclusione nello studio. Il progetto è stato finanziato in parte e in maniera incondizionata da Bayer SpA Italia. Lo studio si è concluso a novembre 2023, con il termine delle visite di follow-up. Sono attualmente in corso le analisi dei dati raccolti e la pubblicazione dei risultati.

- Il progetto CV PREVITAL, progetto nell'ambito della prevenzione cardiovascolare primaria, 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. Lo studio è attualmente in corso e l’inclusione dei pazienti terminerà a febbraio 2024.

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° XII/725 del 24/07/2023) 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.

- **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.

- **Caratterizzazione di anomalie genetiche in SEU**

Grazie ai nostri studi, le analisi molecolari hanno permesso di dimostrare che nella maggior parte dei casi di SEU atipica (aSEU) 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 (DGKε). Questi studi hanno inoltre dimostrato 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. I dati raccolti hanno anche fornito il razionale per nuove terapie, quali la plasmaferesi a scopo preventivo, il trapianto combinato fegato-rene ed il trattamento con eculizumab per curare la aSEU e per prevenire o trattare in modo efficace le recidive della malattia dopo trapianto renale (Imanifard Z et al., *Transplantation*, 2023). Più in generale, 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.

- **Caratterizzazione di varianti strutturali di FH e FHR in SEU atipica (aSEU) e impatto sull'esito clinico**

aSEU è associata a disregolazione della via alternativa del complemento. La regione cromosomica che include *CFH e CFHR1-5* è ricca in sequenze ripetute, che favoriscono riarrangiamenti genomici osservati in molti pazienti con aSEU. Tuttavia, la prevalenza di riarrangiamenti genomici in *CFH e CFHR* nelle forme primarie e secondarie di aSEU, la risposta alla terapia e l'esito clinico sono limitati a pochi casi reports. Recentemente abbiamo riportato i risultati di uno studio retrospettivo sulle variazioni (CNCs) di *CFH-CFHR* in un'ampia coorte di pazienti non consanguinei affetti da aSEU primaria (n=258) o secondaria (n=92). Abbiamo valutato la prognosi di pazienti con varianti strutturali *CFH-CFHR* e il contributo della presenza concomitante di varianti di geni del complemento rare o alterazioni anti-FH nello sviluppo della malattia. Per superare i limiti della "next generation sequencing" (NGS) nel rilevare le varianti strutturali nella regione *CFH-CFHR*, abbiamo applicato altre tecniche (Multiplex Ligation – dependent Probe Amplification – MLPA; long read sequencing – Single-Molecule Real-Time, SMRT) e il sequenziamento diretto per identificare e caratterizzare riarrangiamenti genomici rari. Questi sono stati identificati nel 6% dei pazienti, inclusi 2 pazienti con le forme secondarie

della malattia. Inoltre, abbiamo identificato un gruppo di pazienti che portavano riarrangiamenti solo nei geni *CFHR*, finora osservati in associazione con diverse forme di glomerulonefrite membranoproliferativa (C3G e IC-MPGN). Questo gruppo presentava un fenotipo più lieve della malattia rispetto a quello di pazienti con riarrangiamenti in *CFH*. Questi risultati confermano il ruolo importante di riarrangiamenti genomici *CFH* nella patogenesi di aSEU e indicano l'impatto potenziale delle varianti strutturali che interessano i geni *CFHR* nella predisposizione e nel fenotipo della malattia (Piras R et al., *Front Immunol.*, 2023).

- **Un test *ex-vivo* per studiare fattori genetici di suscettibilità per aSEU**

Un'indagine genetica esauriente è essenziale come supporto clinico nei pazienti con aSEU per corroborarne la diagnosi e come guida al trattamento. Tuttavia, la caratterizzazione delle varianti dei geni del complemento rimane difficile in relazione alla complessità di studi funzionali con proteine mutate. Abbiamo quindi disegnato uno studio con l'obiettivo di: i) identificare un test per la determinazione funzionale rapida delle varianti dei geni del complemento; ii) evidenziare alterazioni del complemento in pazienti con aSEU non portatori delle varianti genetiche identificate finora. Per questo abbiamo utilizzato un test *ex-vivo* che valuta la deposizione di C5b-9 indotta dal siero su cellule endoteliali attivate con ADP in 223 soggetti da 60 alberi genealogici di aSEU (66 pazienti e 157 consanguinei non affetti da aSEU). I risultati dimostrano che il test di formazione di C5b-9 dopo esposizione al siero può essere un approccio utile per la valutazione funzionale rapida di varianti genetiche rare del complemento. In combinazione con il sequenziamento dell'esoma, questo test può essere d'aiuto nella selezione di varianti e identificare nuovi fattori genetici associati a aSEU (Gastoldi S et al., *Front Immunol.*, 2023).

- **Identificazione di pazienti con PTT a rischio di recidiva**

Recenti evidenze, a cui ha contribuito anche il nostro Istituto, hanno documentato il ruolo del complemento nel regolare l'emostasi e la coagulazione e viceversa, e come l'alterazione di questi due sistemi possa determinare eventi tromboinfiammatori severi, che si associano ad aSEU e PTT (Noris M et al., *Immunol Rev.*, 2023).

- **Microangiopatia trombotica e gravidanza**

La gravidanza ed il *post-partum* sono stati a lungo riconosciuti come periodi ad alto rischio per diverse forme di microangiopatia trombotica (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 F et al., *Kidney Int.*, 2023).

- **Registro internazionale per le Forme Familiari e Ricorrenti di SEU e PTT**

Nato nel 1996, il Registro ha permesso di raccogliere la più ampia casistica a livello internazionale (1802 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 (Donadelli R et al., *Semin Nephrol.*, 2023).

- **Studi per ottimizzare il trattamento della SEU e individuare nuovi potenziali approcci terapeutici**

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 (Noris M et al., *Kidney Int Reports.*, 2023). 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 aSEU. Presso i nostri Laboratori è stato messo a punto negli anni scorsi un test *ex-vivo* 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 aSEU. 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*".

- **Studio aHUS-iPSC-EC**

La remissione clinica nella aSEU si basa sulla valutazione dell'efficienza di inibizione del complemento a livello endoteliale. Nonostante i notevoli progressi nella comprensione della patogenesi della SEU, per i pazienti con aSEU affetti da mutazioni in proteine espresse sulla superficie delle cellule endoteliali o nella proteina intracellulare DGKe, è assolutamente necessario chiarire le conseguenze funzionali di tali mutazioni sulla funzione delle cellule endoteliali per identificare appropriate strategie terapeutiche. Alla luce di questo obiettivo, otterremo cellule endoteliali a partire da cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC) di pazienti con aSEU, che sono portatori di mutazioni nei geni MCP e DGKE. Questi modelli saranno determinanti per stabilire se l'eculizumab, un inibitore del complemento C5, possa essere efficace in questi pazienti e per monitorare l'efficacia, il dosaggio e la durata della terapia nel tempo oppure per valutare nuove strategie terapeutiche che potrebbero avere enormi benefici economici per il sistema sanitario nazionale ed enormi benefici per la qualità della vita dei pazienti. Il progetto aHUS-iPSC-EC (PNRR-MR1-2022-12375758), eseguito dal nostro Istituto

in collaborazione con l'AOU Policlinico S. Martino di Messina, pone i seguente obiettivi: i) generare cellule endoteliali derivate da iPSC ottenute a partire da cellule mononucleate del sangue periferico di pazienti con mutazioni nei geni MCP o DGKE e caratterizzarle per l'espressione delle proteine mutate; ii) valutare come le proteine mutate influenzino l'attivazione del complemento a livello della superficie endoteliale, il fenotipo e la funzionalità endoteliale; iii) identificare *in vitro* terapie personalizzate in grado di correggere il danno a livello endoteliale in iPSC-EC di pazienti affetti da aSEU con mutazioni nei geni MCP o DGKE. Verranno selezionati pazienti adulti e pediatrici con una diagnosi di aSEU e portatori di mutazioni nei geni MCP o DGKE, tra quelli inclusi nel Registro Internazionale di SEU/PTT coordinato dal nostro Istituto e tra quelli reclutati dal team del Policlinico S. Martino. In particolare, i ricercatori del Policlinico selezioneranno nuovi pazienti attraverso lo screening clinico e genetico degli abitanti di una piccola isola del Sud Italia (Linosa) con un'alta incidenza di pazienti affetti da mutazioni in DGKE e caratterizzati da un alto tasso di endogamia. Lo studio è stato autorizzato dai Comitati Etici dei due Centri partecipanti.

- **Effetto di una mutazione in eterozigosi nel fattore H del complemento sullo sviluppo della SEU**

In pazienti con aSEU si riscontrano anomalie genetiche nelle proteine regolatrici del complemento che compromettono la loro capacità di proteggere le cellule endoteliali da un'attivazione incontrollata del complemento stesso. In particolare, mutazioni nel gene del Fattore H, una proteina prodotta dal fegato che regola l'attivazione del complemento, causano gravi conseguenze sull'organismo. In un recente studio, abbiamo confrontato topi con una mutazione in eterozigosi nel Fattore H (FH^{WR}) e topi wild-type (FH^{WW}) per valutare se un difetto parziale nella regolazione del Fattore H potesse esacerbare gli effetti patogenetici dell'attivazione del complemento e lo sviluppo di trombosi in risposta a Stx2/LPS. Nei topi con la mutazione del Fattore H si è osservato un peggioramento dell'insufficienza renale, della trombocitopenia e una maggiore trombofilia, con formazione di numerosi trombi, soprattutto nel fegato e nei polmoni, non osservati nei topi FH^{WW}. La mutazione ha aumentato l'attivazione del complemento, in particolare la formazione del complesso di attacco di membrana C5b9 che distrugge le cellule endoteliali, e l'espressione del recettore dell'anafilotossina C5a (C5aR) nei capillari peritubulari renali. L'alterata regolazione del complemento nei topi FH^{WR} ha determinato un incremento della produzione dell'anafilotossina C5a, che attrae e attiva i leucociti, portando a un'accentuata risposta infiammatoria in vari organi rispetto ai topi FH^{WW}. La mutazione nel Fattore H del complemento predispone quindi ad una maggiore severità della malattia.
Sulla base di questi risultati, abbiamo testato il trattamento con un antagonista del recettore del C5a. I dati preliminari indicano un miglioramento della funzione renale e una riduzione dell'infiammazione nel rene e nel fegato. Questi risultati suggeriscono il blocco dell'asse C5a-C5aR come possibile nuovo target per il trattamento della SEU.

- **Glomerulonefrite membranoproliferativa e C3 Glomerulopatia**

Le glomerulonefriti membranoproliferative (MPGN) e le C3 Glomerulopatie (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 predisporne 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 (Noris M et al. *Nephrol Dial Transplant.*, 2023; Noris M & Remuzzi G, *Nephrol Dial Transplant.*, 2023). Le attività si svolgono in collaborazione con altri Centri di rilievo internazionale e nell'ambito dell'*European Complement Network, ECN* (http://www.ecomplement.org/).

- **Registro delle MPGN/C3G**

Nato nel 2006, il Registro ha permesso di raccogliere i campioni biologici di 622 pazienti, oltre che dei loro familiari, grazie al coinvolgimento di 35 centri italiani e 15 centri stranieri. In circa il 18% 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 precedente lavoro (Iatropoulos et al., *J Am Soc Nephrol.*, 2018) 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.

- **Studio DECODE: definizione della stratificazione dei pazienti con C3G/IC-MPGN per una migliore diagnosi ed un trattamento personalizzato**

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 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 dell'Istituto Mario Negri. 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 per identificare nuove strategie terapeutiche. Le analisi di proteomica e metabolomica vengono eseguite nei laboratori "*Proteomicslaboratory, Center of Systems Biology"*, situato ad Atene (Grecia) 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 II 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 migliorane 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*". Le informazioni raccolte con i sondaggi state analizzate nel corso del 2023 ed è stato preparato il paper per la pubblicazione dei risultati.

- **Studio UNEARTH: ricerca dei meccanismi molecolari che causano IC-MPGN 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: i) 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; ii) analizzare gli effetti delle anomalie genetiche di C3 e CFH-CFHRs su fenotipo, funzioni podocitarie e sul *crosstalk* endotelio-podocita; iii) determinare gli effetti delle alterazioni del gene IQGAP1, recentemente identificati, su struttura e funzione dei podociti, nonché sull'attivazione secondaria del complemento; iv) 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 i determinanti molecolari coinvolti nella patogenesi di 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.

- **Trials clinici per il trattamento delle IC-MPGN/C3G con nuovi farmaci inibitori del complemento**

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 varie 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 nostro Centro partecipa inoltre ai seguenti studi clinici internazionali con nuovi farmaci inibitori del complemento in C3G o IC-MPGN, per alcuni dei quali sono disponibili risultati preliminari.

In particolare:

- **Studio LNP023 (iptacopan) in C3G**

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 testare 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 III. 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 ottenuti 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 e per un trial di fase III. I risultati dello studio di estensione sono in fase di pubblicazione.

- **Studio APPEAR-C3G**

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. Al termine del 2023, il nostro Centro Clinico ha arruolato 10 pazienti.

- **Studio NOBLE**

Studio randomizzato, controllato, in aperto, di fase II 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. Il nostro Centro Clinico, unico attivato in Italia, ha contribuito al numero massimo di 12 soggetti previsti dal protocollo.

- **Studio VALIANT**

Studio di fase III, 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. Lo studio, iniziato nel 2022, si basa sull'arruolamento di circa 80-100 pazienti grazie al coinvolgimento di oltre 100 centri di ricerca a livello globale. Ad oggi, questo studio è l'unico che prevede l'arruolamento di pazienti a partire dai 12 anni di età. Il nostro Centro Clinico ha contribuito con tre pazienti adolescenti e due adulti.

- **Altri studi per chiarire la patogenesi di IC-MPGN/C3G e la risposta a specifici trattamenti**

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 (Noris M & Galbusera M, *Immunol Rev., 2023*), 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 (Daina E et al., *Immunol Rev.*, 2023) 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, 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. Ne sono un esempio alcuni studi attivati presso il nostro Centro Clinico, in particolare:

- **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.

- **Studio BIOCRYST: BCX9930 in C3G**

La ditta BioCryst Pharmaceuticals ha sviluppato un nuovo inibitore orale del Fattore D, 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.

- **Silenziamento del fattore B nel fegato per trattare la C3G in un modello sperimentale nel topo**

L'attivazione non controllata del complemento, per difetti genetici e/o acquisiti, ha un ruolo patogenetico nella C3G. Attualmente, non esistono trattamenti approvati specifici per questa malattia, ma nuovi farmaci che direttamente contrastano le alterazioni della via alternativa del complemento hanno aperto nuove prospettive per il suo controllo. Il Fattore B (FB), un componente chiave della via alternativa del complemento, è sintetizzato principalmente dagli epatociti. Abbiamo disegnato uno studio in cui sopprimere selettivamente l'espressione di FB nel fegato utilizzando uno "small interferring" RNA (siRNA) in due modelli sperimentali di topo caratterizzati dalla perdita funzionale completa (Cfh-/-) o parziale (Cfh+/-) del Fattore H (FH) del complemento. La delezione in omozigosi di FH induceva il fenotipo severo della C3G. I topi con delezione in eterozigosi di FH avevano livelli intermedi di C3 e presentavano una progressione più lenta della malattia, una forma più simile alla C3G nell'uomo. Abbiamo dimostrato che il trattamento con FB siRNA non migliorava i livelli di C3 nel siero, né limitava i depositi di C3 nei glomeruli dei topi Cfh-/-, mentre normalizzava i livelli circolanti di C3, riduceva i depositi C3 glomerulari e limitava i depositi elettrondensi mesangiali in topi Cfh+/-. Questi risultati forniscono informazioni importanti sui benefici potenziali e i limiti di strategie terapeutiche mirate ad inibire FB e suggeriscono FBsiRNA nel fegato come possibile approccio terapeutico per il trattamento di pazienti con C3G e con aploinsufficienza di FH (Zanchi C et al., *Mol Immunol*., 2023).

- **Studio COMPRare**

Una diagnosi tempestiva e accurata rappresenta ancora una grande sfida per i medici, sia nel caso della aSEU, per differenziarla dalle altre forme di microangiopatia trombotica, sia nella C3G, per distinguerla da altre forme di glomerulonefriti. Tuttavia, i test diagnostici in grado di

rilevare le anomalie genetiche e/o acquisite nel sistema del complemento variano in modo considerevole da laboratorio a laboratorio e non sempre sono conclusivi. Da qui la necessità di sviluppare test diagnostici accurati e standardizzati, in particolare quelli per la rilevazione dei C3NeFs, autoanticorpi che legano e stabilizzano la C3 convertasi. Nella aSEU e nella C3G vengono spesso trovate varianti di significato incerto (VUS)/varianti probabilmente patogenetiche (LPV) nei geni del sistema del complemento. Una rapida e funzionale identificazione e interpretazione delle VUS/LPV potrebbe aiutare a comprendere meglio la patofisiologia di queste due malattie rare e influenzarne così la diagnosi e il trattamento. Attualmente, i pazienti affetti da aSEU vengono trattati efficacemente con eculizumab e ravolizumab, due anticorpi monoclonali che bloccano il fattore C5 del complemento. Tuttavia, la durata e le dosi ottimali del trattamento sono ancora argomento di grande discussione, soprattutto a fronte dell'elevato costo dei farmaci. Nonostante studi recenti abbiano dimostrato una possibile restrizione nell'utilizzo di eculizumab, vi è una chiara necessità di identificare ulteriori biomarcatori e stabilire nuovi protocolli per il monitoraggio e il follow-up dei pazienti affetti da aSEU e C3G. Questo studio fa parte di un progetto più ampio, COMPRare (COMPlement-mediated Rare kidney diseases), finanziato nell'ambito del programma EJP RD (*European Joint Programme on Rare Diseases*) della Comunità Europea ed è condotto da un consorzio scientifico a cui prendono parte 7 Paesi europei: *Radboudumc, Amalia Children's Hospital* (The Netherlands), *Semmelweis University* (Hungary), *Cordeliers Research Center* (France), *Max Delbruck Center for Molecular Medicine* (Germany), *Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri* (Italy), *Lund University* (Sweden), *Lille University* (France). In particolare, gli obiettivi specifici di COMPRare sono: i) sviluppare nuovi test analitici standard, identificando così specifici biomarcatori prognostici del sistema del complemento per la diagnosi precoce, la classificazione, il miglioramento del monitoraggio e del trattamento dei pazienti con aSEU e C3G; ii) caratterizzare in maniera approfondita le anomalie del complemento nel sangue dei pazienti, nelle cellule derivate dai pazienti e nelle biopsie renali; iii) identificare una strategia di classificazione per le VUS/LPV; iv) identificare nuovi meccanismi patofisiologici coinvolti nella aSEU e nella C3G per migliorare ulteriormente diagnosi, monitoraggio e trattamento della malattia. L'obiettivo generale a cui si dedicherà il nostro Istituto è quello di sviluppare strumenti specifici per permettere la diagnosi precoce e monitorare le fasi della malattia nei pazienti affetti da aSEU e C3G e valutare l'efficacia, la dose e la durata delle cure. Inoltre, poiché l'identificazione e la caratterizzazione delle VUS/LPV (per lo più eterozigoti) rimangono una sfida aperta a causa della scarsità di studi funzionali, i nostri ricercatori hanno l'obiettivo di studiarle e caratterizzarle funzionalmente.

- **Sindromi nefrosiche**

La denominazione Sindrome Nefrosica (SN) si applica ad una condizione clinica caratterizzata dall'associazione di 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 bambini e 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 glomerulosclerosi focale segmentaria (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 (Salfi G et al., *Front Immunol.*, 2023).

Il contributo del nostro Istituto alla comprensione delle SN spazia dagli studi sperimentali, alla validazione dei biomarcatori di malattia, alla identificazione di nuovi bersagli terapeutici, grazie anche a collaborazioni internazionali.

- **Registro delle sindromi nefrosiche**

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 746 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 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, 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 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: i) identificare il pattern di anomalie del sistema immunitario innato ed adattativo che caratterizzano i pazienti con recidiva di GSFS nel rene trapiantato e ii) stabilire se tali anomalie possono effettivamente spiegare la recidiva di GSFS nel rene trapiantato. Lo studio ha arruolato 7 pazienti e si articola in due fasi: studio caso-controllo e studio di coorte prospettico.

- **Studio BLADE**

Le alterazioni immunologiche hanno un ruolo determinante nella progressione della sindrome nefrosica steroido-dipendente (SDNS/FRNS). Tuttavia, diversamente da quanto descritto in pazienti pediatrici, nessuna alterazione importante nel profilo delle cellule B o T è stata documentata negli adulti. In questo studio abbiamo caratterizzato il fenotipo di cellule B e T in una coorte selezionata di pazienti adulti con SDNS/FRNS durante la fase di remissione indotta dal trattamento con steroidi e prima di iniziare la terapia con rituximab come intervento farmacologico che risparmia l'uso di steroidi. Inoltre, abbiamo valutato se le modifiche al basale in sottopopolazioni di cellule B e T possono identificare pazienti con SDND/FRNS che recidivano o non recidivano dopo l'infusione di rituximab. I risultati dimostrano che i pazienti con SDNS/FRNS presentano un'espansione di cellule B memoria e riduzione di cellule T regolatorie (Tregs) memoria nel sangue periferico. Si è osservato inoltre che i livelli di Tregs al basale possono essere utili per identificare pazienti che raggiungeranno remissione duratura della malattia dopo trattamento con rituximab rispetto a chi invece avrà recidive (Casiraghi F et al., *Int J. Mol. Sci.*, 2023).

Malattie rare senza diagnosi: UDNI

- **Sviluppo di un modello diagnostico efficace e sostenibile per l'inquadramento di pazienti orfani di diagnosi**

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, conclusosi nel Novembre 2023, il nostro Centro ha coordinato la rete dedicata ai pazienti adulti, entrata a far parte del network nel 2021, costituita da tre Unità Operative (Istituto Mario Negri IRCCS; 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. Sono stati complessivamente valutati e discussi collegialmente 323 casi (pazienti/nuclei familiari) relativi ad adulti con patologie non diagnosticate, selezionati dai database costantemente aggiornati presso il Centro di Torino e il 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 89 dei 273 casi analizzati. Il risultato presenta importanti implicazioni per quanto riguarda l'impostazione del follow-up e il counseling genetico nei rispettivi nuclei familiari. La descrizione dei fenotipi associati ai geni coinvolti 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. Sono state in particolare identificate anomalie nei seguenti geni responsabili di malattie con manifestazioni multisistemiche, renali ed extra renali: ABCG2, ACTN4, APOL1, ATP6V1B1, C3, CASR, CD59, CEP290, CEP83, CFH, CFHR, CLCN5, COL4A3, COL4A4, COL4A5, CR1, FAT1, FN1, GLA, INF2, HNF1B, HPRT, MMACHC, MYH9, MYO1E, NPHP4, NPHS1, NPHS2, PAX2, PKD1, PKD2, SERPINA2, SLC4A1, SCL7A7, SLC7A9, TRPC6, TSC1, TTC21B, TTR, UMOD, WT1. È stato inoltre identificato un nuovo gene associato alla C3G: IQGAP1 (Quadri L et al., *Immunobiology*, 2023). IQGAP1 interagisce con le proteine della barriera di filtrazione glomerulare e del citoscheletro, regolando la morfologia, la motilità e la permeabilità dei podociti. Nell'ambito di uno studio finanziato dalla Fondazione Regionale per la Ricerca Biomedica (FRRB) Early Career Award, sono stati quindi avviati studi funzionali per determinare gli effetti delle alterazioni di IQGAP1 su struttura e funzione dei podociti, nonché sull'attivazione secondaria del complemento nei pazienti portatori delle varianti patogenetiche.

- **Studio ANTHEM**

Nell'ambito delle malattie rare non diagnosticate, l'Istituto proseguirà le attività con il progetto di recente attivazione ANTHEM (*AdvaNced Technologies for Human-centrEd Medicine*), finanziato dal "Piano nazionale per gli investimenti complementari al PNRR", coordinato dall'Università di Milano-Bicocca in collaborazione con 22 enti italiani.

Le malattie genetiche rare costituiscono un gruppo molto eterogeneo di malattie, spesso non diagnosticate, per le quali i pazienti ricevono solo un trattamento sintomatico. Lo sviluppo della tecnologia di sequenziamento massivo di nuova generazione (Next-Generation-Sequencing, NGS) ha reso possibile l'identificazione di molti dei geni responsabili di queste patologie permettendo di delinearne i meccanismi patogenetici. Le metodiche più comunemente utilizzate, quali il sequenziamento dell'esoma (Whole-Exome Sequencing, WES) o del genoma (Whole-Genome Sequencing, WGS), basate sul sequenziamento del DNA, permettono di identificare mutazioni patogenetiche che causano la perdita di funzionalità della proteina, quali

mutazioni di stop, ampie inserzioni e delezioni e la perdita di siti canonici di splicing. Al contrario, l'attribuzione di patogenicità ad una variante di sostituzione amminoacidica (missenso) o di una variante sinonima è spesso dubbia e, di conseguenza, tali varianti sono spesso catalogate come varianti di significato incerto (VUS). Inoltre, il sequenziamento dell'esoma non è in grado di identificare le possibili varianti patogenetiche localizzate nelle regioni non codificanti, come i siti di splicing non canonici o le varianti introniche profonde. Il sequenziamento WGS, pur consentendo l'identificazione di varianti presenti nelle regioni non codificanti di un gene, è molto costoso e produce una enorme quantità di dati di bassa informatività patogenetica. A causa di queste limitazioni, il 50% circa dei pazienti con malattie genetiche rare rimane senza diagnosi e non può beneficiare dei vantaggi della medicina personalizzata. Il sequenziamento del trascrittoma (RNA-Seq) permette di determinare variazioni nella sequenza e nei livelli di RNA, fornendo informazioni complementari a quelle ottenute con WES e WGS, migliorando così l'efficienza della diagnosi genetica. Poiché l'espressione di RNA, in termini di livelli e di isoforme prodotte dallo splicing alternativo, è tessuto-specifica, il materiale biologico più informativo dal punto di vista trascrizionale è sicuramente il tessuto affetto. Tuttavia, questo non è sempre di facile ottenimento e la raccolta può essere troppo invasiva per il paziente. In questi casi è possibile ricorrere all'utilizzo di tessuti alternativi, quali il sangue intero o biopsie cutanee, che presentano una bassa invasività e un ampio profilo di espressione dell'RNA. I fibroblasti ottenuti da biopsie cutanee, in particolare, si sono dimostrati essere la matrice alternativa più affidabile, omogenea ed informativa per le analisi di RNA-Seq, in un ampio spettro di patologie. Il progetto ANTHEM si propone di identificare, attraverso la tecnologia dell'RNA-Seq, le alterazioni genetiche alla base di malattie rare non diagnosticate in pazienti pediatrici e adulti con esordio precoce e con WES negativo. Nonostante l'NGS sia fondamentale per la diagnosi di malattie genetiche, le sue percentuali di successo vanno dal 30% al 50%. L'avvento dell'RNA-Seq ha aumentato la possibilità di diagnosticare le malattie genetiche dall'8% al 36%. Attraverso questo progetto ci proponiamo di applicare la metodica di RNA-Seq, ad integrazione delle analisi di WES, per la diagnosi di malattie genetiche rare. Il progetto prevede: i) messa a punto e validazione del protocollo di analisi del trascrittoma in soggetti sani e in pazienti con alterazioni note di splicing e/o alterata espressione di RNA; ii) studio delle alterazioni di splicing e dei livelli di RNA in fibroblasti in coltura ottenuti da biopsie cutanee di pazienti con malattie genetiche rare ed esoma negativo.

- **Sindrome di Cornelia de Lange**

Il Dipartimento di Biochimica è impegnato nello studio di una malattia rara della popolazione pediatrica conosciuta con il nome di Sindrome di Cornelia de Lange (ScDL). Tale malattia provoca forti difetti nello sviluppo e nel processo di differenziazione di numerosi tessuti tra cui il sistema nervoso centrale, il cuore ed il fegato. La malattia è di estrema gravità portando generalmente alla morte antro i primi 20 anni di vita. In questo contesto, abbiamo messo a punto modelli di differenziazione in vitro basati su cellule iPSC (Induced-Pluripotent-Stem-Cells) che abbiamo generato dai leucociti di una bambina affetta da *ScDL* (generata da una mutazione specifica del gene *NIPBL*) e dai suoi due genitori sani. In una prima serie di studi, abbiamo corretto il difetto genetico nelle cellule iPSC attraverso un approccio di ingegneria

genetica (Generation of corrected hiPSC clones from a Cornelia de Lange Syndrome (CdLS) patient through CRISPR-Cas-based technology. Umbach A, Maule G, Kheir E, Cutarelli A, Foglia M, Guarrera L, Fava LL, Conti L, Garattini E, Terao M, Cereseto A. Stem Cell Res Ther. 2022 Sep 2;13(1):440. doi: 10.1186/s13287-022-03135-0). Una serie di studi successivi ci hanno permesso di mettere a punto metodi per la differenziazione in vitro delle cellule iPSC verso cellule del sistema nervoso centrale, verso motoneuroni, verso cellule epatocitarie e verso cardiomiociti. Gli studi effettuati ci hanno permesso di stabilire che le iPSC della bambina affetta da *ScDL* sono difettive in questi processi di differenziazione. Attualmente, stiamo effettuando esperimenti di sequenziamento genomico mirati a stabilire i meccanismi alla base di tali difetti nei processi di differenziazione in modo da identificare potenziali bersagli terapeutici.

- **Amiloidosi da catene leggere delle immunoglobuline**

Il Laboratorio di Patologia Umana in Organismi Modello si occupa dello studio dei meccanismi responsabili dell'amiloidosi da catene leggere delle immunoglobuline (o amiloidosi AL), una patologia rara, con un'incidenza di 10 nuovi casi per milione di persone all'anno. Questa amiloidosi è causata da un difetto nelle plasmacellule che induce la produzione anomala delle catene leggere delle immunoglobuline (LC - Light Chains), che acquisiscono così la capacità di aggregare e formare depositi fibrillari in vari tessuti e organi. Le terapie attualmente disponibili sono efficaci su circa il 60% dei pazienti ed una percentuale considerevole di soggetti muore, principalmente per insufficienza cardiaca prima di avere accesso alle cure. Questo è da attribuire all'elevata cardiotossicità delle LC circolanti che fanno dell'amiloidosi AL una patologia cardiaca. Il meccanismo alla base di questa tossicità non è noto e la sua identificazione è reso ancora più difficoltoso dall'assenza di modelli animali che ricapitolino le principali caratteristiche della malattia. Il Laboratorio di Patologia Umana in Organismi Modello, in collaborazione con il Centro per la cura delle Amiloidosi Sistemiche del Policlinico San Matteo di Pavia, e il Dipartimento di Bioscienze dell'Università di Milano, ha sviluppato un nuovo modello animale basato sull'utilizzo del nematode C. elegans, contribuendo alla descrizione di alcuni meccanismi coinvolti nella tossicità delle LC. Lo sviluppo e la caratterizzazione di questo nuovo modello animale rappresentano un risultato molto importante che possono tradursi nell'identificazione di nuovi bersagli farmacologici e la valutazione della loro efficacia mediante studi preclinici.

- **Amiloidosi da gelsolina**

L'amiloidosi da gelsolina (AGel) è una malattia degenerativa genetica rara caratterizzata dalla deposizione in diversi tessuti di aggregati proteici glicolici insolubili. Questa malattia, anche nota come amiloidosi familiare di tipo finlandese, è causata da mutazioni puntiformi in diversi domini della proteina gelsolina. Le varianti patologiche più comuni sono quelle causate da mutazioni nel dominio G2 della proteina che risultano in un'amiloidosi sistemica caratterizzata dalla progressiva deposizione di fibrille amiloidi in diversi organi e tessuti. Recentemente, sono state descritte nuove varianti patologiche associate ad altre mutazioni localizzate nell'interfaccia tra il dominio G4 e G5. Il Laboratorio di Patologia Umana in Organismi Modello,

in collaborazione con l'Istituto di Biofisica del CNR di Milano, studia i meccanismi alla base dell'aggregazione delle proteine in cui le mutazioni sono presenti sui diversi domini. Per questi studi viene utilizzato come modello animale il nematode C, elegans, in grado di riconoscere le forme tossiche delle proteine amiloidogeniche. I risultati ottenuti finora indicano che le tre varianti patologiche che risultano dalle nuove mutazioni nell'interfaccia G4:G5 sono molto più tossiche in vivo rispetto alle varianti legate a G2. Sulla base di questi risultati, abbiamo disegnato alcuni nuovi composti peptidomimetici che si sono rilevati efficaci nel contrastare la proteotossicità delle proteine mutate.

- **Patologie fibrotiche e infiammatorie polmonari ed epatiche**

Il laboratorio di Nanobiologia è principalmente coinvolto nella caratterizzazione di metodi terapeutici innovativi, mediati da nanovettori, per il trasporto di farmaci potenzialmente attivi nella colangite biliare primitiva e nella fibrosi primaria polmonare idiopatica. In collaborazione con il Dipartimento di Gatroenterologia della fondazione IRCCS-Ospedale San Gerardo di Monza, con il Dipartimento di Pneumologia della Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo di Pavia e con il Dipartimento della Scienza del farmaco dell'Università degli studi di Padova, abbiamo studiato la biodistribuzione e la farmacocinetica di un formulato in cui lo steroide desametasone è legato a un nanoassemblato biocompatibile e biodegradabile. Lo studio è stato effettuato somministrando sistemicamente il formulato in un modello murino di colangite epatica e mediante inalazione in un modello di fibrosi idiopatica. È noto infatti che gli steroidi esercitano un potente effetto anti-infiammatorio, ma presentano notevoli effetti collaterali dovuti alla loro bassa specificità d'organo. I nostri studi hanno dimostrato che, l'utilizzo del nanovettore, ha permesso di massimizzare il tropismo verso il bersaglio patologico, riducendo gli effetti derivanti da una diffusione in altri organi. Da questa serie di studi si sono generati nuove ricerche atte al trasporto specifico di altre molecole di interesse farmacologico. Nell'ambito pneumologico è iniziata una ricerca per permettere il rilascio mirato dell'imatinib, farmaco generalmente utilizzato in specifici tumori del sangue, nelle cellule immunitarie che infiltrano il polmone in stati infiammatori acuti e in fibrosi precoci. Questo studio sarà effettuato in collaborazione con il Laboratorio di Farmacocinetica. Nel contesto delle patologie epatiche è stato avviato un progetto che prevede la somministrazione di nanovettori leganti autoantigeni circolanti responsabili dello scatenamento della colangite biliare primitiva nel modello murino ricapitolante queste patologie. Il progetto ha come obiettivo di sfruttare le proprietà immunotollerogeniche del fegato dopo stimolazione, in una sorta di vaccinazione sistemica.

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). 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.

- Anche il Ministero della Salute, con il *Piano Nazionale della Cronicità*, ha identificato diverse linee di intervento volte a migliorare la gestione complessiva delle patologie croniche. Nel contesto delle MRC e dell'insufficienza renale terminale, il Piano Nazionale si propone di raggiungere tre obiettivi chiave: i) individuare le persone a rischio di MRC; ii) ritardare l'insorgenza dell'insufficienza renale; iii) personalizzare le terapie sostitutive, sia in fase predialitica che 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, nonché al coinvolgimento del sistema immunitario (Casiraghi F et al., *Front*

Immunol., 2023). Scoprire e capire come tali fattori interagiscano tra di loro nel causare le malattie ed i 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:

i. 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
ii. strategie di intervento atte a prevenire l'insorgenza delle nefropatie croniche e loro complicanze
iii. interventi innovativi con farmaci biologici o terapie cellulari, per prevenire o rallentare la progressione delle nefropatie croniche ed eventualmente ottenere la remissione/regressione del danno renale
iv. protocolli farmacologici innovativi di immunosoppressione e terapie cellulari per indurre la tolleranza immunologica al trapianto di rene nell'uomo

- **Nefropatia diabetica**

La nefropatia diabetica (DN) è una delle principali complicanze associate al diabete che coinvolge il rene. L'attuale terapia farmacologica 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 DN, 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:

- **Antagonisti recettoriali della frazione C3a del complemento in un modello di danno renale nella malattia diabetica**

È noto che il frammento C3a, che si genera dalla scissione della componente C3 del sistema del complemento, svolge un ruolo importante in diverse forme di glomerulopatie. 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 DN. Abbiamo precedentemente dimostrato che topi BTBRob/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, BTBRob/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 a valle dell'attivazione di C3aR, tra cui; i) IQGAP, una proteina che regola la struttura e funzionalità del citoscheletro nel podocita; ii) la fibronectina, un componente della matrice extracellulare; iii) beta1 integrina, il suo contro-recettore, responsabile dell'adesione dei podociti alla membrana basale. In linea con le osservazioni a livello trascrizionale, il trattamento con antagonista recettoriale di C3a normalizzava l'aumento di espressione di IQGAP, la produzione di fibronectina e limitava la perdita di beta 1 integrina osservati nei podociti di animali con nefropatia diabetica. Attualmente sono in corso studi in vitro per approfondire le relazioni esistenti tra queste proteine e delineare la cascata di eventi intracellulari in podociti esposti a C3a. 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. I risultati di questo progetto di ricerca sono in corso di elaborazione per la sottomissione del manoscritto.

- **Effetto di inibitori dell'enzima di conversione dell'angiotensina (ACEi) sul glicocalice endoteliale in un modello di DN**

In questo studio abbiamo evidenziato che in topi BTBR ob/ob, un modello di DN, la rarefazione dei capillari peritubulari, già precedentemente descritta (Cassis et al., Kidney Int., 2019), era associata ad una marcata alterazione o perdita del glicocalice endoteliale. Attraverso l'analisi al microscopio elettronico a trasmissione, sono emerse anomalie ultrastrutturali delle cellule endoteliali e ispessimento della membrana basale nei capillari peritubulari nei topi diabetici rispetto ai topi wild-type. L'utilizzo di ACEi preservava il glicocalice endoteliale e attenuava le anomalie ultrastrutturali dei capillari peritubulari. Nei reni di questi topi, il danno ai capillari era associato ad un aumento dell'espressione di eparanasi (un enzima correlato al degrado del glicocalice) e dell'infiammazione. Tutte queste alterazioni erano mitigate dalla somministrazione di ACEi. I risultati di questo studio ci indicano che, in un contesto di diabete, il glicocalice rappresenta un importante bersaglio degli effetti benefici mostrati dagli ACEi e che preservare la struttura del glicocalice endoteliale è cruciale per la protezione dei capillari peritubulari durante lo sviluppo della DN (Locatelli M et al., Int. J. Mol. Sci., 2023).

- Ruolo dell'ormone tiroideo (TH) 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, quali la cardiomiopatia e la DN. Alcuni nostri studi precedenti hanno dimostrato che il diabete induce una serie di alterazioni nelle vie metaboliche attivate del TH le quali, a loro volta, hanno un ruolo centrale nei cambiamenti strutturali, metabolici e funzionali nel rene.

Infatti, l'attivazione del recettore TRα1, 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. 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. 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. 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 (in 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 TRα1, poiché, bloccando il legame T3-TRα1 con un inibitore specifico, gli effetti sopra elencati venivano completamente aboliti (Lavecchia A M et al., iScience, 2023; Mantzouratou P et al., Biomedicines, 2023).

- **Applicazione di una tecnica innovativa di microscopia a scansione non convenzionale (SE-SEM) per la caratterizzazione delle alterazioni ultrastrutturali dello spazio sottopodocitario nella DN sperimentale**

La microscopia elettronica a trasmissione rappresenta il gold standard per le diagnosi istopatologiche renali, ma richiede una complessa e lunga preparazione del campione e permette di osservare solo piccole aree di interesse. 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 approccio, che consente di osservare in breve tempo ampie aree di interesse ad altissima risoluzione, è stato utilizzato per studiare le alterazioni ultrastrutturali dello spazio sottopodocitario (SPS) nella DN sperimentale, rivelando che nei topi diabetici il SPS si espande in volume rispetto agli animali di controllo, provocando il distacco dei podociti dalla membrana basale glomerulare e compromettendo la funzione renale. Ulteriori studi sono attualmente in corso per valutare, con la tecnica SE-SEM, l'effetto di farmaci renoprotettivi, come gli ACE inibitori, sul volume del SPS nella DN.

- **Studio CONCORD**

Questo studio internazionale, randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo, multicentrico, è stato recentemente disegnato e approvato per valutare la sicurezza e l'efficacia di dosi orali titolate individualmente di runcaciguat in soggetti con diagnosi clinica di MRC con diabete e/o ipertensione e almeno una comorbidità cardiovascolare. Runcaciguat è un attivatore della guanilato ciclasi solubile (sGC) *in vitro* e *in vivo* e, in modelli animali, ha dimostrato di avere effetti nefroprotettivi. Runcaciguat è utilizzato per la prevenzione della mortalità e morbilità cardiovascolare e/o per la prevenzione della malattia renale allo stadio terminale in pazienti con MRC in stadio 3 e 4 e albuminuria. I risultati di precedenti studi di fase I sia in pazienti sani che in pazienti con funzionalità renale compromessa hanno dimostrato la buona tollerabilità di runcaciguat somministrato come compresse a rilascio modificato e sono quindi di supporto all'avvio di altri studi nei pazienti. Questo è il primo studio a valutare l'efficacia e la sicurezza di runcaciguat in pazienti con diabete di tipo 2 e/o ipertensione con nefropatia cronica e a raggiungere una dimostrazione di fattibilità (*proof-of-concept*) per ulteriori fasi di sviluppo. L'Istituto partecipa come uno dei Centri Clinici del trial internazionale multicentrico.

- **Studio PRIORITY: *post-hoc* analisi**

Lo studio PRIORITY ha interessato pazienti con diabete di tipo 2, funzione renale conservata e normoalbuminuria arruolati in 15 Centri in 10 Paesi europei, a cui ha contribuito in modo sostanziale il nostro Istituto. L'analisi post-hoc di PRIORITY qui proposta ha incluso 1758 pazienti con diabete di tipo 2 seguiti per un tempo mediano di 2.5 anni. L'obiettivo dello studio è stato di valutare se, e in che misura, la presenza di retinopatia diabetica (RD) al basale si associa alla comparsa di microalbuminuria, riduzione della funzione renale e sviluppo di eventi cardiovascolari in questa coorte di pazienti. I risultati dello studio dimostrano che la presenza di RD in una popolazione di pazienti con diabete di tipo 2 e normoalbuminuria è un fattore di rischio per la comparsa di microalbuminuria e malattia cardiovascolare. Tuttavia, non è associata alla riduzione della funzione renale, suggerendo che RD è un indicatore di microvasculopatia in generale e sembra essere un fattore prognostico. Questi risultati possono meglio precisare la valutazione del rischio in pazienti con diabete di tipo 2. In aggiunta, si suggerisce che RD e riduzione della funzione renale in questi pazienti possono non essere strettamente correlati (Curovic V R et al., J. Diabetes Complic., 2023).

- **Iperfiltrazione glomerulare e malattia epatica associata a disfunzioni metaboliche in pazienti con prediabete e obesi**

La steatosi epatica associata a disfunzioni metaboliche (MAFLD) e l'iperfiltrazione glomerulare condividono alcuni fattori di rischio metabolici e funzionali, quali obesità, insulino-resistenza, prediabete, diabete, ipertensione MRC. Perciò, è stata suggerita una possibile associazione tra MAFLD e iperfiltrazione glomerulare. In collaborazione con gruppi di ricerca spagnoli abbiamo quindi disegnato uno studio per: i) determinare la prevalenza di MAFLD in un'ampia coorte di soggetti (n=6697) ad elevato rischio metabolico (i.e. con prediabete e obesità viscerale e funzione renale preservata (i.e. GFR stimato (eGFR) ≥ 60 ml/min); ii) stabilire se, e in che misura, MAFLD per sé è associata a iperfiltrazione glomerulare in questa popolazione. I

risultati documentano che più del 50% di soggetti con prediabete, obesità viscerale e eGFR ≥ 60 ml/min presenta MAFLD, che a sua volta è fortemente associata a iperfiltrazione glomerulare. Inoltre, la presenza di MAFLD sembra potenziare la riduzione di eGFR in rapporto all'età (Parvanova A et al., Diabetes Res Clin Pract., 2023).

- **Malattie renali croniche proteinuriche non diabetiche**

Escludendo la DN, esistono varie MRC caratterizzate da eccessiva perdita di proteine con le urine, le quali rappresentano una causa importante di morbidità/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. Anche per queste MRC, la nostra ricerca ha riguardato sia studi preclinici che studi clinici come indicato di seguito:

i. **Ruolo dell'inibizione della proteina ROCK nella protezione dei podociti dal danno. Le** diverse forme di malattia glomerulare possono condurre alla MRC, la cui progressione può essere solo parzialmente rallentata con le terapie standard in alcuni pazienti. I podociti, cellule specializzate responsabili del mantenimento della permeabilità selettiva della barriera di filtrazione glomerulare, rivestono un ruolo fondamentale come possibile bersaglio per la prevenzione e il trattamento della MRC. L'identificazione dei meccanismi responsabili del danno ai podociti e la scoperta di strategie per inibirne l'attivazione possono aprire la strada a nuove terapie. La proteina chinasi ROCK è una serina/treonina chinasi espressa in diverse cellule, compresi i podociti, ed è coinvolta nella regolazione di varie funzioni cellulari, tra cui la contrazione cellulare, la motilità, la proliferazione, l'infiammazione, l'angiogenesi e l'apoptosi. È stato dimostrato che ROCK gioca un ruolo rilevante nello sviluppo delle malattie cardiovascolari e renali. In questo progetto di ricerca, miriamo a valutare se l'inibizione della proteina ROCK può proteggere i podociti dal danno indotto in vitro da mediatori infiammatori, vasoattivi o proteine ultrafiltrate e ad investigare i meccanismi che potrebbero contribuire agli eventuali effetti protettivi

ii. **Modello sperimentale di glomerulonefrite (GN) crescentica associata a MPO-ANCA: effetto di un inibitore CXCR1/2.** La GN crescentica è una grave malattia renale associata ad anticorpi anti-neutrofili citoplasmatici (ANCA) spesso diretti contro la mieloperossidasi (MPO). Questa condizione compromette rapidamente la funzione renale e si manifesta con ipertensione, presenza di sangue nelle urine e proteinuria, e istologicamente con la formazione di tipiche mezzelune nella maggior parte dei glomeruli. La terapia attuale, basata su immunosoppressori, può causare gravi effetti avversi, spingendo alla ricerca di nuovi trattamenti meno tossici. Nella GN crescentica, l'infiltrazione di leucociti è comune e le chemochine svolgono un ruolo chiave nel reclutare specifici sottogruppi di leucociti nei siti di infiammazione. Uno studio precedente ha evidenziato un aumento di CXCR1 e CXCR2 nelle biopsie renali di pazienti con GN extracapillare, suggerendo un potenziale ruolo della chemochina CXC interleuchina-8 nel reclutamento di leucociti. In questo contesto, l'inibizione di CXCR1/2 è stata valutata, da sola o in combinazione con la ciclofosfamide, nel

modello sperimentale di GN ANCA-associata. L'uso combinato ha significativamente limitato la progressione della malattia, con miglioramenti sia funzionali che istologici. Tuttavia, l'effetto protettivo principale era attribuibile alla ciclofosfamide, mentre l'inibizione di IL-8/CXCR1-2 contribuiva in modo significativo solo sulla pressione sistolica. L'analisi dell'infiltrato glomerulare ha rivelato che l'inibizione di IL-8/CXCR1-2 non ha influenzato in modo specifico neutrofili e macrofagi (i principali bersagli dell'asse), ma ha limitato l'accumulo di cellule T CD4+. Questo suggerisce un ruolo specifico dell'asse IL-8/CXCR1-2 nel reclutamento dei linfociti T nei siti di infiammazione e nella mediazione dell'ipertensione. Sono necessari ulteriori studi per identificare le sottopopolazioni di cellule T CD4+ modulate da questo asse e comprendere se l'alterata attivazione delle cellule T CD4+ contribuisca all'effetto anti-ipertensivo osservato.

iii. **Studio ADAPT.** Alcuni studi documentano che nuovi farmaci, inclusi gli inibitori del co-trasportatore sodio-glucosio di tipo 2 (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 DN, 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 di fase IIb, prospettico, randomizzato, cross-over, in doppio cieco e controllato con placebo. 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 malattia renale cronica 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). Attualmente, è in corso e tutti i pazienti sono stati arruolati.

iv. **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 III 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 ACEi 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:

i. **Studio ALIGN** Si tratta di uno studio di fase III, 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 DN (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.
ii. **Studio PROTECT**. L'Istituto Mario Negri 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 che combina un'azione antagonista del recettore di tipo 1 dell'angiotensina II ed uno 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 stati arruolati e randomizzati 406 pazienti (203 pazienti per gruppo) seguiti per 110 settimane (28 mesi) con il contributo anche del nostro Istituto. I risultati dello studio documentano che il trattamento con sparsentan riduce in modo significativo l'escrezione urinaria delle proteine e preserva la funzione renale rispetto a quanto osservato con irbesartan alla massima dose tollerata (gruppo controllo). Non sono stati evidenziati particolari problemi di tollerabilità e sicurezza del trattamento con sparsentan (Rovin B. H. et al., Lancet, 2023). L'Istituto sta ora contribuendo ad un sottostudio di PROTECT in cui al trattamento con sparsentan si associa un inibitore del SGLT2.

iii. **Studio APPLAUSE** Studi recenti sperimentali e dati di genetica suggeriscono un ruolo importante dell'attivazione del complemento nella patogenesi e progressione della 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 III 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 ACEi 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, a cui contribuisce anche il nostro Istituto.

- **Nefropatia membranosa**

La nefropatia membranosa (NM), principale causa di SN nell'adulto, è il risultato della deposizione di immunoglobuline G (IgG) negli spazi subepiteliali dei capillari glomerulari. Per decenni il trattamento di questa malattia rara ha generato accese controversie in ambito nefrologico, principalmente dovute alla mancanza delle conoscenze dei meccanismi patogenetici alla base dell'insorgenza della malattia, alla variabilità nella risposta dei pazienti ai diversi approcci terapeutici utilizzati e alla necessità di bilanciare l'efficacia del trattamento con gli effetti collaterali potenziali. Circa il 70% dei pazienti affetti da NM presenta specifici auto-anticorpi prodotti dai linfociti B diretti contro uno specifico antigene espresso dai podociti, il PLA_2R1. Questo suggerisce quindi che la malattia sia di origine autoimmune nella maggior parte dei casi. Sulla base di questa evidenza, siamo stati i primi a mettere a punto un protocollo terapeutico 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 NM, quale trattamento di prima linea 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.

Negli ultimi anni, ci siamo anche concentrati sull'identificazione degli specifici autoanticorpi contro PLA_2R1 che sono maggiormente coinvolti nella patogenesi della NM. PLA_2R1 è una proteina estremamente grande, che presenta almeno 11 diverse porzioni che possono essere riconosciute dagli autoanticorpi. In un lavoro di recente pubblicazione abbiamo dimostrato che esiste una particolare porzione di PLA_2R1, chiamata CysR, che rappresenta la principale porzione immunogenica di questa proteina (Ruggenenti P et al., *Am J Kidney Dis*., 2023). La capacità di rituximab di eliminare questi anticorpi specifici contro CysR era associata ad una maggior probabilità di remissione della malattia. Questo rappresenta un importante passo per chiarire quale è il principale target dell'autoimmunità nella NM, con il fine ultimo di identificare terapie più mirate per eliminare i linfociti B che producono questi autoanticorpi. Sebbene il rituximab si sia dimostrato efficacie nel controllare la malattia, questa terapia può fallire nel 25-30% dei pazienti con SN 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. Quindi i nostri sforzi sono ora concentrati sull'identificazione di trattamenti delle forme resistenti.

Il nostro Istituto ha disegnato e attivato nel 2023 alcuni studi con nuovi farmaci biologici per migliorare il trattamento dei pazienti con NM. In particolare:

i. **Studio RESTORE** Circa il 30% di pazienti con NM sono resistenti al trattamento con rituxomab o ne diventano intolleranti con reazioni da ipersensibilità dopo ripetute esposizioni al farmaco. Il nostro gruppo ha documentato la sicurezza e l'efficacia di ofatumumab (anticorpo monoclonale anti-CD20 di 2° generazione completamente immunizzato) in un paziente con NM ricorrente e SN in cui l'intolleranza a rituximab si è sviluppata in seguito a ripetuti trattamenti con quest'ultimo farmaco. Queste osservazioni ci hanno motivato ad utilizzare ofatumumab come terapia di salvataggio per pazienti intolleranti o resistenti a rituximab. In una serie di 7 pazienti intolleranti e in 3 su 10 pazienti resistenti a rituximab con follow-up mediano di 5 mesi (3.0-9.8 mesi) abbiamo documentato remissione completa o parziale della SN con ofatumumab e confrontato la sicurezza e la tollerabilità (Podestà M A et al., Am J Kidney Dis., 2023).
ii. **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 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 per valutare l'efficacia di obinutuzumab (un anticorpo monoclonale innovativo anti-CD20 di 2° generazione) nell'indurre remissione della malattia in pazienti con NM intolleranti, resistenti o dipendenti dalla terapia con rituximab. Inoltre, si valuterà se il farmaco sia sicuro e ben tollerato in queste coorti di pazienti seguiti per 24 mesi dopo il trattamento. 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. Ad oggi stati reclutati 17 pazienti dei 20 previsti.

iii. **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 CD19 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 II, 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 e trattati tutti i 10 pazienti previsti, che sono ora seguiti periodicamente secondo quanto previsto dal protocollo di studio.

iv. **Studio PEPTIDE** Questo studio consiste in un monitoraggio delle cellule B anti- PLA_2R 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- PLA_2R 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- PLA_2R 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 condizioni la risposta al trattamento con anticorpi anti-cellule B.

v. **Studio DROP** L'iperpotassiemia refrattaria è tra le principali cause che determinano l'inizio o la cronicizzazione della terapia renale sostitutiva tramite emodialisi o dialisi peritoneale in pazienti con MRC. La dialisi rappresenta una terapia salvavita, ma ha un forte impatto sulla qualità di vita dei pazienti ed è molto costosa. Pertanto, cercare di posticipare l'inizio della dialisi attraverso la prevenzione dell'iperpotassiemia è fondamentale sia per i pazienti che per il SSN. Nei pazienti con MRC, i maggiori fattori di rischio che determinano l'iperpotassiemia sono una velocità di filtrazione glomerulare (GFR) <45 ml/min/1.73 m^2, l'età avanzata, la presenza di diabete o di insufficienza cardiaca e l'inibizione del sistema renina-angiotensina-aldosterone (SRAA) da parte di ACEi, degli inibitori dei recettori dell'angiotensina (ARB) o degli antagonisti dell'aldosterone. Diversi studi clinici randomizzati hanno dimostrato che gli inibitori SRAA sono più efficaci rispetto ad altre classi di farmaci antipertensivi nel rallentare la progressione delle nefropatie croniche verso l'insufficienza renale terminale. Pertanto, gli SRAA rappresentano la terapia di prima linea per i pazienti con MRC, in particolare per i soggetti affetti da nefropatie proteinuriche. Tuttavia, nei pazienti affetti da MRC, lo sviluppo dell'iperpotassiemia rappresenta il maggior ostacolo per un adeguato blocco del SRAA, soprattutto quando i farmaci che inibiscono tale sistema vengono utilizzati alle dosi massime o in terapia combinata. Una consulenza dietetica, la correzione dell'acidosi metabolica e il trattamento con diuretici dell'ansa sono componenti chiave della terapia per abbassare il potassio in pazienti con MRC. Tuttavia, per prevenire o trattare l'iperpotassiemia, spesso è necessario introdurre anche farmaci che legano il potassio, soprattutto nei pazienti con GFR <45 ml/min/1.73 m^2, diabete e/o trattati con inibitori del SRAA. Abbiamo quindi disegnato lo studio DROP in pazienti con MRC avanzata (stadio IIIb-V) che

prevede l'utilizzo di patiromer (Veltassa), che fa parte di una categoria di nuovi farmaci molto efficaci e ben tollerati e che può risultare utile nei casi di l'iperpotassiemia più severa e/o più difficile da trattare con le terapie convenzionali. Patiromer è un polimero legante il potassio e privo di sodio che non viene assorbito, agendo scambiando cationi a livello del tratto gastrointestinale (approvato sia da FDA sia da EMA). Grazie al suo buon profilo rischio/beneficio, ci aspettiamo che patiromer possa migliorare in sicurezza il controllo dell'iperpotassiemia e ridurre la necessità di interrompere o ridurre il dosaggio degli inibitori SRAA in pazienti con grave MRC. A sua volta, questo potrebbe tradursi in una maggiore nefroprotezione e in un differimento della terapia dialitica, in particolare nei pazienti con MRC agli stadi IIIb e V. Lo studio è stato approvato da AIFA e dal Comitato Etico a giugno 2023 e l'inclusione dei pazienti è iniziata a settembre 2023.

- **Analisi della prestazione di alcuni parametri di funzione renale come end-point surrogati di insufficienza renale terminale nelle MRC**

Un aspetto critico nel disegno di trial clinici controllati (RCT) nella MRC è che l'end-point clinico stabilito - tipicamente un end-point composto di tempo all'insufficienza renale con necessità di terapia sostitutiva o raddoppio dei valori di creatinina sierica - coinvolge eventi tardivi nell'evoluzione della malattia e spesso necessita molti anni perché sia raggiunto per pazienti con lenta progressione o nelle fasi iniziali della malattia. Perciò è necessario identificare end-points surrogati qualitativamente elevati per poter espandere la fattibilità di RCTs nella MRC. L'Istituto partecipa da anni all'iniziativa internazionale "*Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration* (CKD-EPI)" che raccoglie dati di RCTs in cui sono state valutate le "slopes" (declino) di GFR in popolazioni di pazienti con ampio spettro di gradi di severità di MRC. Per questa eterogeneità è stato disegnato uno studio per valutare se esiste un rapporto consistente fra gli effetti di trattamenti sulla slope di GFR e gli effetti degli stessi trattamenti sugli end-points clinici in vari trials che differiscono per gravità della MRC. Per questo studio, sono state condotte analisi Bayesiane di meta-regressione utilizzando 66 trials per valutare se le associazioni a livello di singolo trial degli effetti del trattamento sugli end-points clinici e di slope di GFR sono modificate da tre parametri di severità di malattia: GFR basale, albuminuria basale e velocità di progressione di MRC (considerata come slope cronica media nel gruppo di controllo). I risultati di queste analisi indicano la consistenza della prestazione della slope di GFR totale durante 3 anni di follow-up, che fornisce un'ulteriore evidenza della sua validità come end-point surrogato in RCTs in popolazioni di pazienti con MRC di grado molto variabile (Collier W et al., *J. Am Soc Nephrol*., 2023). Uno studio più recente dello stesso gruppo ha analizzato i dati individuali di più di 186000 pazienti dagli stessi 66 RCTs per valutare gli effetti dei trattamenti sulla slope di GFR totale (dal basale a 3 anni di follow-up), sulla slope cronica (da 3 mesi post-randomizzazione a 3 anni) e sull'end-point clinico combinato. I risultati indicano che la slope di GFR può essere usata come end-point surrogato valido di progressione della MRC. La scelta di utilizzare la slope totale rispetto a quella cronica di GFR e la durata sulla quale è calcolata la slope totale di GFR, dovrebbe essere fatta considerando il disegno dello studio, la popolazione studiata e l'intervento terapeutico proposto nel contesto di programmi di sviluppo di specifici farmaci (Inker L A et al., *Nature Medicine*, 2023). Un altro studio condotto nell'ambito della collaborazione CKD-EPI ha valutato se la combinazione di due parametri

surrogati (modifica del rapporto albumina/creatinina nelle urine – UACR e slope di GFR) possa potenziare la predittività di end-points clinici in 41 trials randomizzati di progressione di MRC. I risultati dimostrano che in trials di MRC di fase II con 100-200 pazienti per gruppo e un follow-up di 1-2 anni, la combinazione di informazioni degli effetti del trattamento sulle modifiche nel rapporto UACR e sulla slope di GFR migliora la predizione degli effetti sugli end-points clinici a lungo termine (Heerspink HJ L et al., *J. Am. Soc. Nephrol*., 2023).

- **Studio sul controllo intensivo della pressione arteriosa nella MRC**

L'effetto della riduzione marcata della pressione arteriosa (BP) - ad un valore di pressione arteriosa sistolica <120 mmHg - sul rischio di insufficienza renale che richiede terapia sostitutiva rimane ancora poco chiaro in pazienti con MRC avanzata. D'altra parte, questi pazienti sono poco rappresentati in trials clinici che finora hanno valutato il controllo intensivo della BP. Attraverso un'iniziativa internazionale, a cui ha partecipato anche il nostro Istituto, è stato disegnato uno studio con l'obiettivo di valutare l'effetto del controllo intensivo di BP in pazienti con MRC (definita come eGFR <60 ml/min per 1.73m^2) utilizzando un pool di dati ottenuti da grandi trials clinici relativi a controllo intensivo di BP. In particolare, il nostro interesse era di valutare se il controllo intensivo di BP aveva un effetto positivo sull'esito renale o mortalità in pazienti con MRC stadio IV o V rispetto a coloro con MRC con stadio III. I risultati di questa analisi su 7 trials clinici (5823 pazienti) suggeriscono un beneficio del controllo intensivo della BP nel ritardare l'inizio della terapia sostitutiva in pazienti con MRC stadio IV-V, ma non necessariamente in quello con MRC in fase più precoce (stadio III). Sebbene queste siano analisi post-hoc, non si è osservato nessun effetto negativo in questa popolazione a rischio elevato sia in termini di end-point renale che di mortalità (Ku E et al., *J. Am Soc Nephrol.*, 2023).

- **Malattie renali croniche non proteinuriche**

i. **Malattia renale policistica.**

La malattia renale policistica autosomica dominante (ADPKD) 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. In particolare, il nostro Istituto è stato il primo a proporre l'analogo della somatostatina (octreotide-LAR) come terapia del rene policistico, farmaco attualmente inserito da AIFA nell'elenco dei prodotti erogabili a carico del SSN per indicazione terapeutica diversa da quella autorizzata (Legge 648/1996). Questo è il risultato degli studi clinici multicentrici ALADIN e ALADIN 2 disegnati o coordinati dall'Istituto negli scorsi anni.

- **Imaging nella malattia policistica renale**

La linea di ricerca è focalizzata sullo sviluppo e l'applicazione di tecniche per la quantificazione volumetrica e la caratterizzazione morfologica e funzionale dei reni policistici a partire da immagini diagnostiche acquisite mediante tomografia computerizzata (TAC) o risonanza magnetica (RM). Il Laboratorio di Medical Imaging è coinvolto in numerosi studi clinici volti a studiare l'efficacia di nuove terapie farmacologiche per la malattia policistica renale, studiando

l'effetto del farmaco sulla progressione dei volumi renali ed epatici e delle cisti renali ed epatiche. Sono stati sviluppati algoritmi semi-automatici di quantificazione sia del volume totale che delle cisti. A partire da immagini TAC è stata identificata una nuova componente tissutale di natura fibrotica, associata alla perdita di funzione renale. Ci proponiamo ora di utilizzare la risonanza magnetica senza contrasto per caratterizzare in modo completamente non invasivo la componente non cistica del tessuto renale e identificare nuovi biomarcatori di progressione della malattia che siano sensibili fin dagli stadi precoci di malattia.

- **Imaging a risonanza magnetica per lo studio della fisiopatologia renale**

La linea di ricerca è focalizzata sulla standardizzazione e la validazione clinica di nuove tecniche di imaging a risonanza magnetica senza contrasto per lo studio della fisiologia e patofisiologia renale. L'avvento di nuove tecniche di risonanza magnetica ha reso possibile ottenere informazioni dettagliate sulla struttura e la funzione renale nel corso di un'unica acquisizione di risonanza magnetica, senza la necessità di somministrare alcun mezzo di contrasto. Tuttavia, i protocolli di acquisizione ed elaborazione delle immagini variano a seconda del centro di acquisizione, rendendo difficile il confronto dei risultati e la determinazione di parametri di normalità. Nell'ambito di una collaborazione internazionale, il Laboratorio di Medical Imaging partecipa alla standardizzazione delle nuove tecniche di risonanza magnetica, con l'obiettivo di renderle utilizzabili nella gestione clinica dei pazienti con malattie renali. Il Laboratorio è inoltre impegnato nell'identificazione di nuovi marcatori di risonanza magnetica sensibili alla progressione di malattia fin dagli stadi precoci e in grado di monitorare la risposta a nuove terapie, e nella validazione degli stessi nell'ambito di studi clinici, con l'obiettivo di favorirne l'ingresso nella pratica clinica

Nel nostro Centro l'interesse per la malattia ADPKD è proseguito con altri studi illustrati qui di seguito:

- **Sviluppo di un modello in piastra di ADPKD**

Ad oggi non esiste un farmaco ideale per la ADPKD in grado non solo di rallentare la crescita, ma anche di regredire la formazione delle cisti, privo di effetti collaterali. Recentemente abbiamo sviluppato un modello di malattia *in vitro* partendo dalle cellule dei pazienti stessi al fine di studiare i meccanismi alla base della formazione delle cisti per sviluppare nuovi farmaci. Il modello parte dalla generazione di cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC) che abbiamo differenziato verso organoidi della gemma ureterica, uno stadio embrionale dello sviluppo da cui prende origine il dotto collettore (il segmento renale più colpito nei pazienti con ADPKD). Utilizzando questo protocollo, nello studio in corso abbiamo dimostrato che gli organoidi generati da cellule iPSC nelle quali abbiamo deleto il gene *PKD1* mediante tecniche di ingegneria genetica formano spontaneamente cisti, a differenza delle cellule di un donatore sano, confermando la bontà del modello. I prossimi studi prevedono l'analisi della cistogenesi in organoidi del dotto collettore derivati da iPSC di due pazienti con mutazioni in PKD1

(responsabili dell'85% dei casi di ADPKD), fondamentale per lo sviluppo di nuove terapie farmacologiche paziente specifiche più mirate.

- **Trattamento della ADPKD attraverso l'inalazione di nanotrasportatori di ormone tiroideo**

Alcuni dei nostri studi hanno dimostrato che il trattamento con L-tiroxina (T4) - un ormone prodotto naturalmente dalla ghiandola tiroidea e solitamente ridotto nei pazienti con MRC – può prevenire la progressione della malattia. Poiché T4 regola diversi processi biologici nel nostro organismo, il trattamento sistemico potrebbe causare alcuni effetti indesiderati. In questo studio vogliamo rafforzare gli effetti benefici di T4 ed evitare quelli indesiderati. Per fare ciò, stiamo sviluppando un approccio basato sulla nanomedicina (NanoT4) in grado di veicolare in modo specifico T4 alle sole cellule delle cisti. A tal fine, valuteremo la specificità di diversi sistemi NanoT4 e il loro potenziale nell'inibire la formazione e la crescita delle cisti in modelli 3D umani, ottenuti a partire da pazienti affetti da ADPKD. Per garantire la massima specificità e sicurezza, ottimizzeremo le dosi e i tempi *in vivo* monitorando i livelli di NanoT4 nel sangue e nelle urine, nonché valutando l'effetto in vari organi. Successivamente, svilupperemo un metodo minimamente invasivo (es. aerosolizzando le nanoparticelle), per somministrare i sistemi NanoT4 selezionati e valuteremo la loro efficacia nel prevenire la crescita delle cisti e la progressione della malattia in un modello animale di ADPKD. Questo progetto aspira a sviluppare un metodo sicuro, efficiente e facile da utilizzare per il trattamento della ADPKD ed a generare importanti conoscenze sulla patobiologia della ADPKD.

- **Studio TOOL**

Recentemente abbiamo avviato un nuovo studio di fase II in pazienti con ADPKD 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 ADPKD 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 questo 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). I risultati di questo studio hanno dimostrato che in pazienti con ADPKD, octreotide-LAR in aggiunta a tolvaptan riduce l'iperfiltrazione glomerulare in modo efficace rispetto al solo trattamento con tolvaptan. Inoltre, octreotide-LAR riduce il volume totale di reni e quello delle cisti renali e attenua l'effetto acquaretico di tolvaptan (Trillini M et al., *CJASN*, 2023).

- **Identificazione di nuovi varianti genetiche in una coorte di pazienti con ADPKD**

La maggior parte delle varianti genetiche responsabili della malattia osservata in pazienti con ADPKD sono localizzate in 2 geni: PKD1 and PKD2. L'Istituto ha condotto uno studio in cui 237

pazienti da 198 famiglie con diagnosi clinica di ADPKD sono stati screenati per le varianti genetiche in PKD1 e PKD2 utilizzando analisi di sequenziamento Sanger con implicazioni multiple. Varianti diagnostiche (che sono causa della malattia) sono state identificate in 173 famiglie (211 pazienti), 156 nel gene PKD1 e 17 in quello PKD2. In 6 altre famiglie sono state documentate varianti di significato non noto, mentre nelle restanti 19 non è stata trovata nessuna mutazione. Tra le varianti diagnostiche documentate, 51 erano nuove. In 10 famiglie, sono stati dimostrati 7 ampi riarrangiamenti e identificati i breakpoints molecolari di 3 riarrangiamenti. Lo studio ha inoltre documentato che la sopravvivenza dei reni era peggiore in pazienti con mutazioni nel gene PKD1, soprattutto in coloro portatori di mutazioni troncanti. In questi ultimi pazienti l'inizio della malattia era significativamente più precoce rispetto a quello con pazienti con mutazioni in PKD2. Questi risultati confermano l'utilità di test genetici approfonditi per la diagnosi di pazienti con ADPKD e contribuiscono a spiegare l'eterogeneità clinica della malattia. Inoltre, la correlazione genotipo-fenotipo permette di definire in modo più accurato la prognosi (Orisio S et al., *Nephron*, 2023).

- **Studio REORIENTED**

Attualmente, esistono solo due opzioni farmacologiche specifiche in ADPKD, Tolvaptan e Octreotide-LAR, i quali tuttavia sono disponibili solamente per i pazienti ad alto rischio di insufficienza renale terminale (ESKD). D'altra parte, molti pazienti con ADPKD sviluppano ESKD nonostante queste terapie. Questo è in larga parte dovuto alla grande variabilità patofenotipica e genotipica tra pazienti, alla complessa patobiologia della malattia e alla scarsità di modelli animali in grado di mimare fedelmente il fenotipo umano. È quindi necessario individuare i meccanismi che regolano la patogenesi della malattia per scoprire nuovi bersagli terapeutici. Le ricerche fatte finora suggeriscono che gli ormoni tiroidei (TH) possano fungere da modulatori pleiotropici anche nella patobiologia della ADPKD. I segnali TH giocano un ruolo cruciale nella regolazione della de-differenziazione cellulare e riattivazione del ciclo cellulare, nonché nel metabolismo ed evoluzione delle malattie cardiache e renali. È interessante notare che sono stati rilevati cambiamenti nei livelli di TH in circa l'80% dei pazienti con insufficienza renale cronica, mentre pazienti con ADPKD mostrano una più elevata incidenza di ipotiroidismo clinico e subclinico. Nonostante queste evidenze, la capacità dei TH di modulare i processi anti-cistogenici e renoprotettivi nella ADPKD non è ancora stata studiata. Grazie alle nostre conoscenze di ingegneria dei tessuti e utilizzando modelli animali e cellulari, abbiamo cercato di capire se la modulazione farmacologica dei segnali TH possa effettivamente rappresentare una strategia terapeutica efficace nell'inibire la formazione e la crescita di cisti e migliorare la funzionalità renale nella ADPKD. Abbiamo infatti dimostrato, con studi meccanicistici, che i TH - in particolare T4 - possiedono forti proprietà anticistogeniche e sono in grado di modulare la crescita delle cisti e la progressione della malattia. Questi risultati suggeriscono che una somministrazione tempestiva di ormoni TH, soprattutto nelle prime fasi, potrebbero essere in grado di ritardare la progressione o addirittura provocare l'inversione dei parametri clinici chiave della ADPKD. Abbiamo quindi recentemente disegnato lo studio REORIENTED con l'obiettivo generale di determinare i livelli sierici di TH in pazienti ADPKD con diversi gradi di funzione renale (normale, lieve, moderata o grave insufficienza renale). In particolare, lo studio si

propone di: i) stabilire i livelli serici di triiodotironina (T3) e T4 totale e libera, di ormone tireostimolante (TSH) e di triiodotironina inversa (rT3) nei pazienti con ADPKD; ii) di correlare i valori di TH con i parametri di funzionalità renale dei pazienti oggetto di studio; iii) di valutare se i livelli serici di TH variano in base alla gravità del danno renale e di valutare lo specifico ruolo che le molecole esaminate rivestono nei confronti dello sviluppo del danno renale. Lo studio è in corso.

Nuovi approcci di analisi di immagini nelle malattie renali e nella risposta alla terapia. L'Istituto Mario Negri 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, in condizioni di malattia renale acuta e cronica (Zollner F G et al., *International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, 2023).

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

- **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. L'Istituto Mario Negri 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 Mario Negri. Lo studio è attualmente in corso.

- **RM nucleare funzionale per monitorare la progressione delle MRC senza la necessità di biopsie ripetute: l'esempio della glomerulonefrite membranoproliferativa primitiva (MPGN)**

La MPGN è una malattia renale rara, con prognosi sfavorevole e mancanza di terapie specifiche. L'eterogeneità della malattia e la difficoltà di eseguire biopsie renali ripetute rappresentano ostacolo importante nella gestione di pazienti con MPGN. Tra le tecniche di RM per il rene, quella pesata in diffusione (DWI-MRI), che permette di raccogliere informazioni dettagliate di microstruttura e funzione dell'organo, è stata utilizzata recentemente per localizzare il danno a carico del tessuto renale e valutarne il suo significato anche prima che si osservi una riduzione della funzione renale, così da poter predire l'evoluzione funzionale e seguire le modifiche della microstruttura tissutale che si possono verificare durante il

trattamento della MRC. Inoltre, la RM in contrasto di fase (PC-MRI) permette di valutare la perfusione dei reni, fornendo informazioni utili aggiuntive. Abbiamo applicato queste tecniche di RM (DWI-MRI e PC-MRI) al monitoraggio di un piccolo numero di pazienti con MPGN e documentato una correlazione importante e significativa tra i parametri di RM, i dati istologici della biopsia renale e quelli clinici (Villa G et al., *Nephron*, 2023). Questi risultati sottolineano la potenziale validità della RM funzionale per monitorare la progressione di MRC. Mentre la biopsia renale rimane determinante per la diagnosi, la RM funzionale multiparametrica potrebbe limitare la necessità di biopsie ripetute per monitorare la progressione della malattia. Sono ora necessari studi con una numerosità di pazienti maggiore per confermare questi risultati e dimostrare il beneficio in rapporto ai costi di questo approccio con RM nella gestione delle malattie renali rare

- **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. L'Istituto 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 biomarcatore facilmente accessibile e riproducibile, da poter utilizzare per il monitoraggio e una migliore gestione della ADPKD. Abbiamo perciò sviluppato un metodo automatico per la quantificazione del volume delle cisti renali basato su immagini di DWI. Il nuovo metodo è stato messo a confronto con il metodo semi-automatico di riferimento basato su immagini di 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. In conclusione, questo studio dimostra la validità di DWI nel quantificare il volume totale delle cisti e caratterizzare le microstrutture non cistiche del tessuto renale in pazienti con ADPKD (Caroli A et al., *European Radiology*, 2023). Nuovi altri approcci di analisi di immagini in combinazione con tecniche di radiomica permetteranno in un futuro prossimo di caratterizzare meglio i pazienti con ADPKD nelle fasi iniziali, monitorare la progressione della malattia, e possibilmente predire la perdita di funzione di questi reni (Caroli A et al., *J. Clin. Med*., 2023).

- **Sviluppo di un network neuronale per la registrazione di immagini 3D potenzialmente applicabili al paziente con malattie renali**

La registrazione di immagini con approccio multimodale è un importante area di ricerca nell'elaborazione di immagini in campo medico, poiché permette l'integrazione di informazioni complementari di varie modalità di immagini. Questa funzione può trovare numerose applicazioni cliniche, anche nell'ambito delle malattie renali, migliorandone la prognosi e la pianificazione dei trattamenti. Ad esempio, la diagnosi precoce e il monitoraggio continuo della progressione della ADPKD sono critici per prevenire o ritardare lo sviluppo di insufficienza renale terminale. La combinazione di diverse modalità di immagini potrebbe migliorare

l'accuratezza della diagnosi e il monitoraggio di ADPKD. In collaborazione con l'Università di Heidelberg, il nostro Istituto ha proposto e sviluppato un nuovo network neuronale che combina trasformazioni rigide, affini e deformabili per la registrazione di immagini mediche multimediali tridimensionali, con risultati molto incoraggianti (Strittmatter A et al., *Appl Sci.*, 2023).

- **Sviluppo di tecniche di intelligenza artificiale (AI) per predire il declino della funzione renale in pazienti ADPKD**

L'Istituto partecipa inoltre come sotto-unità del CNR (Roma) al progetto AI4PKD (progetto PRIN 2022), che si propone di scoprire nuovi biomarcatori precoci di ADPKD, basati su metodi di AI robusti ed affidabili per l'analisi automatica di immagini di risonanza multiparametrica addominale. Verrà utilizzato un dataset retrospettivo di dati e immagini di pazienti ADPKD e soggetti di controllo per disegnare dei modelli di stratificazione ad-hoc, basati sulla descrizione radiomica delle componenti renali e epatiche, a partire da accurate tecniche di segmentazione. Per questo verranno addestrate delle reti neurali bayesane, e sviluppate tecniche di AI spiegabile per aumentare l'affidabilità dei metodi di segmentazione. I metodi verranno testati e validati sia in modo qualitativo che quantitativo.

- **Sviluppo di tecniche di AI per quantificare in automatico il volume renale e 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 nella ADPKD sulla base del TKV, dell'eGFR e dell'età del paziente. L'Istituto Mario Negri, 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 AI che permettano di quantificare in automatico e con accuratezza il TKV, migliorando la predizione della perdita di funzione renale nel tempo. È stato sviluppato, mediante tecniche di Deep Learning, un tool che consente di segmentare automaticamente il TKV, estrarre direttamente le caratteristiche più informative (dette "*features*") dalle immagini di RM renali acquisite al basale ed utilizzarle insieme ad età e eGFR per predire lo stadio di MRC 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. L'approccio proposto potrebbe quindi migliorare il monitoraggio e indicare la prognosi dei pazienti ADPKD fin dagli stadi più precoci di malattia (Raj A et al., *Z. Med Phys.*, 2023). L'AI ha potenzialità per trasformare significativamente la clinica della medicina e in particolare per quanto riguarda le indagini radiologiche. Un esempio importante è rappresentato dall'approccio al paziente con ADPKD in cui sono attesi miglioramenti rilevanti nell'efficienza del lavoro nella routine clinica grazie all'applicazione dell'AI nella pratica quotidiana. Tuttavia questo rimane ancora da dimostrare in studi controllati (Caroli A et al., *Mayo Clinic Proc.*, 2023).

- **Quantificazione automatica del volume interstiziale peritubulare su immagini di istologia renale mediante tecniche di AI**

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 AI 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. Inoltre, nell'ambito del consorzio CYStic, l'Istituto ha partecipato allo sviluppo e validazione di un algoritmo generato attraverso un approccio di AI per la misura di routine del TKV in pazienti con ADPKD, partendo da immagini ottenute con RM. Il nuovo algoritmo automatizzato si è dimostrato molto preciso nel determinare il TKV rispetto all'approccio di segmentazione normale. Questa tecnica di AI è validata nella maggior parte dei pazienti con ADPKD, in un range molto ampio di volumi renali, forma dei reni, e coesistenza di malattia policistica del fegato. Con questo approccio, i tempi di misura di TKV si riducono moltissimo (in media 9 minuti per caso) rispetto alla valutazione manuale tradizionale (in media un'ora per caso) (Taylor J et al., *Kidney Int Reports.*, 2023).

- **Analisi di emodinamica computazionale nella stenosi dell'arteria renale dovuta a displasia fibromuscolare**

La stenosi dell'arteria renale dovuta a displasia fibromuscolare costituisce un importante problema clinico, la cui diagnosi dipende da misure di pressione a monte e a valle della stenosi, che attualmente vengono acquisite con una procedura invasiva di cateterismo. Il nostro obiettivo è sviluppare una procedura robusta che fornisca una stima affidabile dei valori di pressione usando tecniche di fluidodinamica computazionale e, in un secondo momento, validare la stessa confrontando i valori stimati con quelli misurati con cateterismo. Nel corso del 2023, in collaborazione con *Saint-Luc Université catholique* di Lovanio, è stata sviluppata la procedura di simulazione e abbiamo ottenuto importanti risultati sulla fattibilità della tecnica.

- **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 MRC. Il trattamento emodialitico richiede inizialmente la confezione di una fistola arterovenosa (FAV), ma il suo tasso di fallimento è ancora elevato. L'Istituto Mario Negri ha in corso alcuni studi clinici con l'obiettivo generale di migliorare l'esito

della FAV a lungo termine in pazienti in emodialisi, di cui presentiamo di seguito un aggiornamento:

i. **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. Lo studio multicentrico internazionale ha incluso dati di 124 pazienti relativi 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 M et al., *J Vasc Access.*, 2023)

ii. **Utilizzo di un algoritmo di machine learning per la predizione del flusso sanguigno nella FAV***.* Il dataset di 124 pazienti usato nello studio con il sistema di simulazione AVF.SIM, integrato con 32 pazienti aggiuntivi, è stato poi utilizzato per condurre un'analisi esplorativa volta a comprendere il potenziale delle nuove tecniche di machine learning per la predizione del flusso sanguigno nella FAV. Dopo aver testato diversi algoritmi di machine learning, abbiamo mostrato che *k*-NN è l'approccio che permette di ottenere la predizione più accurata del flusso di sangue dopo la maturazione della fistola arterovenosa, rivelandosi un valido algoritmo per il miglioramento della pianificazione della chirurgia dell'accesso vascolare per emodialisi (Doneda M et al., *J Vasc Access.,* 2023)

iii. **Studio delle alterazioni morfologiche ed emodinamiche nella FAV per emodialisi.** I meccanismi che determinano la formazione di stenosi nella FAV sono ancora poco chiari. Studi di fluidodinamica computazionale condotti dal nostro Istituto hanno evidenziato la presenza di flusso disturbato nel lato venoso della FAV. Partendo da evidenze sperimentali, l'azienda *Laminate 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 (Soliveri L et al., *Int J Artif Organs.*, 2023).

- **Imaging nelle fistole artero-venose per emodialisi**

La linea di ricerca è focalizzata sullo studio del moto del sangue nelle fistole arterovenose per emodialisi. Le nuove tecnologie nell'ambito dell'imaging medicale e le moderne tecniche di fluidodinamica computazionale ci hanno permesso di riprodurre accuratamente la distribuzione e la variazione delle sollecitazioni emodinamiche a livello del singolo paziente, partendo dalle sue indagini ecografiche e di risonanza magnetica. Inoltre, l'analisi morfologica su modelli tridimensionali paziente-specifici ci ha permesso di evidenziare le variazioni morfologiche che avvengono nel tempo all'interno dei vasi in seguito alla creazione dell'accesso vascolare per emodialisi. Ci proponiamo di identificare la relazione tra cambiamenti nelle sollecitazioni emodinamiche e variazioni morfologiche che portano alla chiusura della fistola arterovenosa.

- **Studio dell'interazione fluido-struttura nella FAV 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 nostro Istituto 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. Abbiamo poi applicato i codici sviluppati in modelli paziente-specifici di FAV 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 (Bozzetto M et al., *Phys Eng Sci Med.*, 2023).

- **Studio VASOUND: analisi acustica dei suoni emessi dal flusso sanguigno per rilevare complicanze vascolari nelle fistole per emodialisi**

Lo studio VASOUND ha l'obiettivo di esplorare le potenzialità dell'analisi acustica dei suoni emessi dalle fistole arterovenose per emodialisi come tecnica di monitoraggio e previsione di eventuali complicazioni. La registrazione e l'analisi dei suoni è semplice, poco costosa e non invasiva e può quindi consentire una sorveglianza continua della funzione degli accessi vascolari. Tuttavia, prima di entrare nella pratica clinica di routine, il suo valore prognostico e il suo potenziale devono ancora essere dimostrati. Lo studio VASOUND prevede l'arruolamento di 24 pazienti che necessitano la creazione della fistola ed è in corso presso *l'Unità di Nefrologia e Dialisi* dell'ASST Papa Giovanni XXIII di Bergamo. I pazienti vengono sottoposti a registrazione e analisi de suoni e vengono monitorati parallelamente attraverso un'ecografia, in 8 visite distribuite nell'arco di due anni. Nel 2023 sono stati arruolati 6 pazienti e le visite di follow-up di questi pazienti sono in corso.

- **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:

i. **Vescicole extracellulari ottenute da cellule stromali mesenchimali (MSC) 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 (EV-NAMPT) sono state testate *in vitro* per valutare la rilevanza biologica dell'aumentata espressione di NAMPT. Le EV-NAMPT erano più efficaci nel ridurre il danno alle cellule renali indotto da cisplatino. Le EV così modificate sono state testate in un modello animale di insufficienza renale acuta indotta da cisplatino. Dall'analisi della funzionalità renale è emerso che il trattamento con

EV-NAMPT aveva un potere renoprotettivo superiore rispetto alle EV di controllo. Attualmente, sono in corso esperimenti per valutare l'efficacia del trattamento nel preservare la struttura del tessuto renale e per identificare i mediatori cellulari su cui agiscono le EV. 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.

ii. **Rigenerare il cuore e rene diabetico utilizzando nanoparticelle in grado di rilasciare selettivamente l'ormone tiroideo (TH) nelle cellule danneggiate.** La nefropatia diabetica e la cardiopatia diabetica 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 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. L'obiettivo del progetto è quello di sviluppare sistemi innovativi di rilascio mirato del farmaco basati su nanoparticelle, in grado di riconoscere e rilasciare il TH selettivamente nelle cellule danneggiate dallo stress diabetico per rigenerare i tessuti 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. È stata poi 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 nostro laboratorio sono poi 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 (3 mesi) per valutare l'efficacia terapeutica dei due sistemi. Da questi studi, eseguiti nel 2023, è emerso che il trattamento con entrambi i nanotrasportatori ha migliorato significativamente la funzionalità cardiaca (diastolica e sistolica) e renale (riduzione della perdita di proteine nelle urine) negli animali diabetici. Questi effetti sono accompagnati, a livello molecolare, da una marcata riduzione della fibrosi in entrambi gli organi, riduzione del danno glomerulare e tubulare nel rene e dal mantenimento della

funzionalità contrattile dei cardiomiociti. Infine, non è stato notato un aumento dei livelli sierici di T3, suggerendo che gli effetti ottenuti sono tessuto-specifici e non dovuti ad un rilascio di T3 a livello sistemico.

iii. **Generazione *in vitro* di sferoidi tridimensionali di podociti da cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC) ottenute da pazienti con sindrome di Alport***.* Uno dei limiti maggiori nello studio di meccanismi patofisiologici della sindrome di Alport e nello sviluppo di approcci terapeutici efficaci è la mancanza di modelli che possono riprodurre in modo adeguato il fenotipo della malattia nell'uomo, la complessa biologia della malattia e l'elevata complessità fenotipica fra pazienti. In collaborazione con ricercatori dell'Università di Nicosia, Cipro e di Oxford (UK) abbiamo messo a punto un modello *in vitro* che può essere usato in modo efficiente per lo studio personalizzato della sindrome di Alport nell'uomo. Con questo obiettivo, abbiamo inizialmente ottimizzato un protocollo per la produzione di podociti da iPSC ottenute da pazienti con sindrome di Alport. Utilizzando questo approccio abbiamo identificato in modo personalizzato nuovi meccanismi molecolari influenzati dalle mutazioni genetiche che determinano la malattia. Attualmente stiamo sviluppando un organ-on-chip a partire da iPSC per: i) riprodurre le funzioni del glomerulo in *vitro*; (ii) riprodurre più fedelmente malattie renali rare, come la sindrome di Alport; (iii) testare la tossicità e l'efficacia di farmaci in maniera personalizzata (Romero-Guevara R et al., *Front Cell Dev Biol*., 2023)

iv. **Studio NEPHSTROM.** La terapia cellulare con MSC rappresenta una strategia di trattamento innovativo 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 Ib/IIa (*Novel Stromal Cell Therapy for Diabetic Kidney Disease*), parte di un progetto EU Horizon 2020 Framework Programme. L'obiettivo è 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 DN progressiva. NEPHSTROM è un trial randomizzato in doppio cieco che prevede gruppi di pazienti trattati con singole dosi di MSC (80, 160, 240x10^6 cellule) a gruppi sequenziali o con placebo, seguiti per 18 mesi. I risultati preliminari indicano la sicurezza e tollerabilità della terapia cellulare con ORBCEL-M nella coorte di pazienti trattati con la dose più bassa (80x10^6 cellule). La velocità di riduzione di GFR stimato (eGFR) durante i 18 mesi di follow-up era significativamente inferiore nei pazienti che ricevevano la terapia cellulare rispetto a quelli trattati con placebo (Perico N et al., *JASN,* 2023a; Perico N et al., *JASN,* 2023b)

v. **Studio MESNEPH.** 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 pediatrici e giovani adulti affetti da SDNS/FRNS. 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. I risultati dello studio indicano che il trattamento con MSC è sicuro e riduce le recidive e l'immunosoppressione a 12 mesi in bambini con SDNS/FRNS (Vivarelli M et al., *J. Clin Invest Insight.*, 2023).

- **Trapianto di rene**

Il trapianto d'organo è uno dei maggiori successi della medicina degli ultimi 40 anni, raggiunto grazie alle tecniche chirurgiche più avanzate e all'introduzione di nuovi farmaci e regimi di immunosoppressione che hanno ridotto al minimo il rischio di rigetto acuto dell'organo. L'obiettivo ora è permettere all'organo trapiantato di sopravvivere a lungo evitando il rigetto cronico, un processo non ancora ben definito nei suoi meccanismi patogenetici e per il quale non ci sono approcci farmacologici adeguati o risolutivi, ma a cui in parte contribuisce anche la tossicità dei farmaci immunosoppressivi stessi. L'Istituto, che da anni fa ricerca preclinica e clinica nel campo del trapianto di rene, si è dedicato ultimamente al problema del rigetto cronico e alle possibili strategie di prevenzione, nonchè agli approcci di perfusione del rene pre-trapianto per minimizzare il danno da ischemia/riperfusione (Santarsiero D & Aiello S, *Cells*, 2023).

Di seguito vengono presentati brevemente i risultati ottenuti in questo campo di ricerca:

i. **Sviluppo e valutazione di una nuova formula per la stima di GFR in pazienti con trapianto di rene.** Predire in modo accurato la velocità di filtrazione glomerulare (GFR) è critico nella gestione e monitoraggio dei pazienti con trapianto di rene. Tuttavia, va notato che le equazioni di stima di GFR (eGFR) oggi disponibili sono state sviluppate in pazienti con reni nativi e non trapiantati. Il consorzio *Kidney Disease: Improving Global Outcomes* (KDIGO) ha sostenuto la necessità di sviluppare nuove formule di eGFR prive del parametro "razza" per pazienti con trapianto di rene. Nell'ambito di un'iniziativa internazionale, a cui ha partecipato anche il nostro Istituto, è stato disegnato uno studio per sviluppare e validare una nuova formula di eGFR con queste caratteristiche in cui sono stati utilizzati i dati di 17 coorti di pazienti con trapianto di rene in Europa, Stati Uniti e Australia (complessivamente 15489 pazienti adulti). I risultati hanno dimostrato una buona prestazione della nuova equazione di eGFR sviluppata e validata dal gruppo di ricerca. In particolare, questa equazione (senza parametro "razza") ha prestazioni migliori rispetto a quella CKD-EPI (senza parametro "razza") sviluppata in pazienti non trapiantati, ed è stata validata in diversi paesi e popolazioni. La nuova equazione eGFR proposta potrà contribuire a prendere

decisioni cliniche più accurate nella cura quotidiana dei pazienti con trapianto di rene (Raynaud M et al., *BMJ*, 2023).

ii. **MSC 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. Altri hanno proposto più recentemente una terapia cellulare con cellule immuni modificate derivate dal donatore del rene da trapiantare (MIC) (monociti e linfociti). Tuttavia, non esistono evidenze che questa strategia sia in grado di promuovere tolleranza immunologica in pazienti con trapianto di rene (Griffin et al., *J Am Soc Nephrol.*, 2023). 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 anti-infiammatoria, 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 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 allogeniche e quello secondario è di caratterizzare gli eventuali meccanismi di immuno-modulazione 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.

- **Studio PHOENIX**

Il trapianto d'organo è la sola opzione per milioni di pazienti con insufficienza funzionale terminale di un organo, ad esempio il rene. Nonostante i risultati del trapianto sono significativamente migliorati negli ultimi 10-20 anni, la necessità di terapia immunosoppressiva cronica determina una inibizione generalizzata del sistema immune del ricevente, esponendo i pazienti al rischio di tumori e infezioni (incluso COVID-19), oltre che ad aumentare i rischi di malattie cardiovascolari e metaboliche (i.e diabete). Queste complicanze pongono un dilemma importante ai medici: bilanciare la riduzione della terapia immunosoppressiva con il rischio elevato di rigetti e perdita dell'organo trapiantato da un lato, con il rischio altrettanto elevato di infezioni e tumori dall'altro. Perciò c'è necessità urgente di terapie innovative in grado di indurre tolleranza del ricevente specificatamente verso l'organo trapiantato, riducendo al minimo o possibilmente eliminando la terapia cronica farmacologica antirigetto. Con questo obiettivo, l'Istituto Mario Negri, in collaborazione con *Consorci Institut d'Investigationes Biomediques Ayguot PI I Sunyer* (FCRB), in Barcellona, Spagna, e il *Centre Hospitalier Universitaire de Rennes* (CHUR) in Rennes, Francia, ha disegnato il progetto PHOENIX supportato da HORIZON-HLTH-2022-DISEASE-06-02. PHOENIX propone di valutare una nano-immunoterapia innovativa che consiste di nanoparticelle rivestite con complessi di proteine (molecole del complesso maggiore di istocompatibilità – MHC con uno specifico ligando) che dovrebbe essere in grado di riprogrammare le cellule del sistema immune specificatamente

direttе contro l'organo trapiantato in cellule regolatorie in grado di indurre tolleranza al trapianto. Queste cellule riprogrammate infatti indurranno un microambiente tollerogenico, localmente nell'organo trapiantato, senza effetti sistemici. Questo progetto nasce sulla base di studi precedenti condotti da alcuni dei collaboratori di PHOENIX sulla riprogrammazione della risposta autoreattiva di cellule T per mitigare alcune malattie autoimmuni, e vuol estendere questo approccio alla capacità di bloccare il rigetto dell'organo trapiantato. L'obiettivo generale di PHOENIX è di validare attraverso studi sperimentali pre-clinici questo approccio nel trapianto di due organi (rene e fegato) in due modelli (topo e maiale) e raccogliere evidenze solide per trial clinici futuri.

- **Effetto delle forze emodinamiche sull'endotelio vascolare**

Scopo del progetto del Dipartimento di Bioingegneria è lo studio delle sollecitazioni meccaniche generate dalla circolazione sanguigna sulle cellule endoteliali che rivestono la parete interna dei vasi e sulle cellule muscolari che costituiscono il vaso. Per stabilire, a livello sperimentale, il ruolo degli sforzi di taglio nel fallimento degli accessi vascolari creati nei pazienti dializzati, abbiamo realizzato un dispositivo basato su una geometria a piatto-cono che ci ha permesso di esporre colture di cellule endoteliali a diversi valori di sforzi di taglio. Abbiamo dimostrato che l'esposizione delle cellule endoteliali ad uno sforzo di taglio oscillante è in grado di indurre un aumento significativo della produzione di segnali biochimici coinvolti nello sviluppo incontrollato di neointima e dunque al fallimento dell'accesso vascolare.

Inoltre, stiamo sviluppando dei device per analizzare l'effetto non solo della fluidodinamica ma anche delle vibrazioni che si rilevano in corrispondenza degli accessi vascolari. Recenti ricerche hanno fatto emergere la necessità di indentificare l'effetto che tali vibrazioni possono avere sullo sviluppo di neointima e conseguente formazione di stenosi.

- **Applicazioni della micro tomografia assiale computerizzata a modelli sperimentali - Dipartimento di Bioingegneria**

La micro tomografia assiale computerizzata (microTAC) è una metodica diagnostica che permette di ottenere immagini anatomiche ad altissima risoluzione di strutture scheletriche e, con l'utilizzo di un mezzo di contrasto, dei tessuti molli. Uno dei mezzi di contrasto maggiormente utilizzati ex vivo è il Microfil, un polimero radiopaco a base di silicone, che permette la visualizzazione della rete vascolare e, dopo l'analisi delle immagini ottenute, la sua geometria assegnando ad ogni vaso il suo diametro ed il livello di ramificazione nella rete. L'utilizzo della microTAC, con l'infusione del mezzo di contrasto, ci ha consentito inoltre di studiare la vascolarizzazione e la crescita delle cisti renali in un modello sperimentale di rene policistico. Ulteriore applicazione della microTAC riguarda lo studio delle strutture cardiovascolari che possono essere evidenziate utilizzando una soluzione a base di iodio (il reattivo di Lugol) che viene assorbito dai tessuti in proporzione alla loro densità. L'analisi 3D ci

permette di studiare le alterazioni morfologiche e volumetriche delle cavità cardiache. In collaborazione con il laboratorio di Biologia e Terapia delle Metastasi Tumorali, stiamo valutando la possibilità di studiare l'evoluzione dell'angiogenesi (formazione di nuovi vasi sanguigni) in modelli di tumori murini mediante perfusione con Microfil. Useremo la microTAC come tecnica non invasiva per analizzare alterazioni del tessuto osseo causate dai tumori. Stiamo inoltre valutando la crescita di metastasi tumorali nel fegato infondendo in vivo un mezzo di contrasto a nanoparticelle.

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:

i. Identificare nuovi target molecolari "druggable" e biomarkers diagnostici, prognostici e predittivi della risposta a specifiche terapie antitumorali
ii. Studiare la biologia dei tumori, e cioè i pathways responsabili della loro crescita, della loro neo-angiogenesi, della metastatizzazione e della loro interazione con la risposta immunitaria
iii. Studiare il meccanismo d'azione e le 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
iv. Studiare i meccanismi alla base della resistenza ai farmaci antitumorali e possibili metodi per superarla
v. 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
vi. Ottimizzare dell'utilizzo di farmaci e strategie terapeutiche mirata al miglioramento della normale pratica clinica
vii. 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

- 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 valutare nuove terapie che stanno mostrando dati interessanti all'interno si studi clinici di accademici e ove possibile 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 le 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 quelle pazienti con scarse probabilità di rispondere alla terapia e di sottoporle quindi ad un trattamento tossico.
In questo contesto, nel 2023 il dipartimento ha attivamente promosso e condotto uno studio clinico, denominato AtTEnd presentato durante un importante congresso internazionale in ambito oncologico, ESMO (European Society for Medical Oncology) a Madrid. Lo studio ha ottenuto importanti risultati nel carcinoma endometriale avanzato o ricorrente somministrando il farmaco immunoterapico atezolizumab in combinazione alla chemioterapia (carboplatino e paclitaxel). La sperimentazione ha incluso 551 pazienti e gli esiti confermano il grande beneficio dell'aggiunta di atezolizumab alla chemioterapia standard nelle pazienti con carcinoma dell'endometrio metastatico e ricorrente, soprattutto in quelli in cui il tumore presenta una specifica caratteristica (il deficit del MMR, mismatcht repair). I dati indicano che questa strategia migliora la sopravvivenza libera da progressione di malattia (ovvero il tempo che intercorre tra l'inizio del trattamento e il momento in cui la neoplasia si ripresenta) e si allunga anche la sopravvivenza generale.
Lo studio AtTEnd è uno studio accademico internazionale, di fase III, in doppio cieco, randomizzato, che ha coinvolto 89 centri sperimentali in 10 nazioni. Lo sponsor di questo studio è il MaNGO (Mario Negri Gynecologic Oncology group. http://www.mango-group.it) e l'investigatore principale è la Prof.ssa Colombo dell'Istituto Europeo di Oncologia di Milano.

- Nell'ambito del tumore all'ovaio, l'Istituto collabora attivamente nella conduzione di un importante studio sul carcinoma ovarico sieroso di basso grado avanzato (LGSCO). Si tratta di una forma rara di tumore ovarico che è noto dalla letteratura rispondere poco alla chemioterapia ma che ha una eelevata espressione dei recettori per estrogeni e progesterone. In questo setting si hanno dati promettenti da casistiche osservazionali per farmaci come il Letrozolo, il quale inibisce la produzione di estrogeni dal tessuto adiposo nelle donne in postmenopausa.
Su queste basi il dipartimento in collaborazione con l'E.O. Ospedali Galliera di Genova ha ideato e attivato uno studio clinico di fase III (studio LEPRE) volto a confrontare la superiorità , in termini di sopravvivenza libera da progressione, di una terapia ormonale con Letrozolo, rispetto alla chemioterapia standard, nel trattamento in prima linea o adiuvante, in pazienti con carcinoma ovarico sieroso di basso grado avanzato (LGSCO) positivo per i recettori estrogeni (ER) e/o progesterone (PgR), che hanno effettuato un intervento di chirurgia citoriduttiva. Lo studio LEPRE nel corso del 2023 ha iniziato il reclutamento delle pazienti, sono previsti due anni di arruolamento e la fine dello studio è prevista per 2027.

- Un altro importante contributo dell'Istituto nell'ambito del tumore dell'ovaio è stata l'ideazione e attivazione dello studio IOLANTHE, uno studio italiano multicentrico di fase IV, volto a descrivere le caratteristiche cliniche e molecolari che potrebbero indirizzare le pazienti con diagnosi di carcinoma epiteliale avanzato dell'ovaio, delle tube di Falloppio o peritoneale primario di alto grado e positive al test HRD (Homologous Recombination Deficiency), a ricevere olaparib più bevacizumab come mantenimento in prima linea e per

confermare l'efficacia clinica e la sicurezza di olaparib quando somministrato in associazione con bevacizumab. Promotore dello studio è il gruppo YMaGiNe (Young MaNGO Gynecologic Network). Lo studio include due importanti due progetti di ricerca traslazionale. Il primo relativo all'analisi del DNA tumorale circolante (ctDNA) derivante dai campioni di plasma raccolti a differenti tempistiche (biopsia liquida) con l'obiettivo di valutare e monitorare, attraverso metodiche di Next Generation Sequencing, l'evoluzione della malattia e i cambiamenti dello stato mutazionale dei geni correlati al meccanismo di ricombinazione omologa (HR) che potrebbero portare ad una differente sensibilità ai PARP inibitori. Il secondo relativo alla generazione di modelli organotipici che includano cellule staminali tumorali. L'obiettivo sarà quello di valutare se questo approccio sarà in grado di predire la risposta al PARP inibitore nelle pazienti con carcinoma ovarico. Nel corso del 2023 è stata ottenuta l'approvazione da parte degli enti regolatori e sono stati attivati i primi centri sperimentali. La fine dello studio è prevista per 2027.

- Partendo da PDX stabilizzati in topi immunodeficienti e molto responsivi a platino e olaparib (inibitore della poli-ADP-ribosio polimerasi) si sono ottenuti deli 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 trasferibilità 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.

- 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.

- 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.

- 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:

i. 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

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

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

- 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.

- Per i **sarcomi** (liposarcomi mixoidi e leiomiosarcomi) 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 agli 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.

Sulla base di esperimenti effettuati su PDX dalla parte sperimentale del dipartimento di Oncologia, hanno aperto la strada a uno studio clinico di fase II (TRABEPIO) tutt'ora in corso, volto a validare una nuova terapia antitumorale in pazienti affetti da liposarcoma mixoide a cellule rotonde o dedifferenziato G1/G2La terapia combina trabectedina, farmaco antitumorale, con pioglitazone, un farmaco antidiabetico capace di trasformare le cellule tumorali della variante più aggressiva di liposarcoma mixoide, quella a cellule rotonde, in un tessuto normale simile al grasso, e quindi in un tumore meno aggressivo. Lo studio TRABEPIO ha attualmente reclutato quattro pazienti e i primi risultati incoraggiano a proseguire la sperimentazione clinica.

- 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 id 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.

  In questo contesto, nel 2023 i nostri ricercatori hanno attivamente partecipato al raggiungimento di rilevanti risultati in uno studio clinico presentato durante un importante congresso internazionale in ambito oncologico, ESMO (European Society for Medical Oncology) a Madrid. Si tratta dello studio RELEVENT, che ha ottenuto importanti risultati nel carcinoma timico. I dati hanno evidenziato una percentuale di risposte superiore alle attese, ottenuta con l'aggiunta di un farmaco anti-angiogenico (ramucirumab) alla chemioterapia standard (carboplatino e paclitaxel). Lo studio Relevent è uno studio nazionale di fase II a cui hanno partecipato 41 pazienti con diagnosi di carcinoma timico avanzato, recidivo o metastatico o con diagnosi di timoma B3 con aree di carcinoma, afferenti a 6 centri sperimentali dislocati su tutto il territorio italiano. Lo studio Relevent ha coinvolto l'Istituto Mario Negri in collaborazione con l'Istituto Nazionale dei tumori di Milano.

  Inoltre, è stato costituito un database clinico, genetico e biologico, alla stregua di un registro di patologia, al fine di poter raccogliere informazioni relative a pazienti affetti da questa patologia rara e afferenti a tutti i centri del Network italiano che si occupa di timomi. Questo database è stato ideato per permettere la conduzione di indagini cliniche, biomolecolari e genetiche al fine di approfondire la conoscenza della malattia e porre le basi per testare nuove strategie terapeutiche.

- Una importante attività è quella di identificare **nuovi farmaci e/o trattamenti** di combinazione mediante l'utilizzo di tecniche di "high-troughput" 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.

- Creazione di nuovi modelli cellulari complessi, definiti **organoidi**, che rappresentano un ottimo intermedio tra i sistemi cellulari classici che crescono i 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 "high-throughput".

- 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.

- 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.

- 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 rexinoidi 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 tessutali 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.

- Un ruolo importante è infine quello di promuovere e **coordinare 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 pediatrici 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.

- L’Istituto, 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.). Il metodo consente di produrre raccomandazioni ex-novo, di adottare o fare l’Adolopment di Linee Guida già esistenti di elevato standard metodologico.
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.
Il Responsabile e alcuni collaboratori sono membri del GRADE Working Group Internazionale con sede alla MacMaster University, Hamilton, Canada; membri di Cochrane Italia, con sede Università di Modena.
L’organico del Laboratorio è composto da statistici/metodologi, epidemiologi clinici, bibliometristi, psicologi, medici di medicina generale e medici oncologi.

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.

- **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 lavorando sulla metodologia degli studi 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 nonché 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. Maggiori dettagli sul sito sviluppato nell'ambito del progetto come interfaccia con pazienti, caregiver e popolazione https://dart.datariverweb.com/iEnter/?lang=it.

- **Progetto Conoscenza PPI – public and patient involvement tra i clinici di MANGO E MITO**

A livello internazionale è riconosciuto come il coinvolgimento di cittadini e pazienti (Public and Patient Involvement – PPI) nella ricerca clinica sia importante e necessario per produrre una conoscenza che possa rispondere ai princìpi democratici di cittadinanza, responsabilità e trasparenza. Con PPI non si intende l'arruolamento di persone con malattia per uno studio o la divulgazione dei risultati della ricerca ai pazienti o al pubblico, ma si intende una ricerca condotta "con" o "da" membri del pubblico – siano esse persone con malattia, utenti e/o loro caregiver, o rappresentanti dei pazienti – e non "verso", "riguardo" o "per" loro.

- L'Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri, con il sostegno della Fondazione Nerina e Mario Mattioli Onlus, ha promosso un progetto coinvolgendo clinici, specializzandi e infermieri di ricerca afferenti ai gruppi collaborativi MaNGO (Mario Negri Gynecologic Oncology) e MITO (Multicenter Italian Trials in Ovarian cancer and gynecologic malignancies) per conoscere le loro competenze ed esperienze sul PPI.

L'indagine, che si è conclusa a dicembre 2023, ha raccolto le risposte di 109 partecipanti, i risultati verranno a breve pubblicati e discussi con i rappresentanti di MaNGO e MITO.

ATTIVITA' DI RICERCA NELL'AMBITO MALATTIE AMBIENTALI

Studi di **predizione della tossicità e dell'esposizione agli 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, sostanze anche di origine naturale presenti nei cosmetici e contaminanti alimentari. Si sono indagate inoltre proprietà ambientali ed ecotossicità di farmaci e fitofarmaci. Si sono studiate tramite simulazioni al computer le proprietà di distribuzione delle sostanze chimiche sia nell'ambiente sia all'interno del corpo umano per migliorare la stima dell'esposizione al fine di migliorare la gestione del rischio. I **modelli sviluppati** tramite metodologia QSAR o read-across sono **disponibili gratuitamente sul sito VEGA (www.vegahub.eu)**.

Più nel dettaglio su questa tematica nel 2023:

i. il progetto **ALTERNATIVE** si è occupato di sviluppare modelli basati su intelligenza artificiale e machine learning per descrivere l'interazione di composti cardiotossici con alcuni dei target principali coinvolti in questo processo sia per i farmaci (modellando per esempio l'inibizione del canale hERG) o dei contaminanti ambientali, valutando lo stress ossidativo
ii. i progetti **OBERON** ed **ED-SCREEN** sono occupati di interferenti endocrini, ossia composti che alternano il normale funzionamento del sistema endocrino. Sono stati sviluppati modelli per valutare l'interferenza con il processo di steroidogenesi, valutato tramite sistemi in vitro basati su cellule H295R, con l'obiettivo di sviluppare un sistema di screening che consenta di prioritizzare i composti potenzialmente più problematici
iii. Nel progetto **PARC** si è stilato un elenco di software che possono essere utilizzati per valutare le proprietà tossicologiche e di esposizione per informare sull'utilizzo di sostanze alternative più sicure secondo il principio del Safe and Sustainable by Design
iv. Nel progetto finanziato da EFSA e relativo al database **OpenFoodTox** si sono sviluppati modelli relativi agli effetti ecotossicità dei fitofarmaci lavorando su specie solitamente meno considerate quali gli anfibi
v. Nel progetto **ONTOX** si sono sviluppati modelli per valutare l'interazione con i principali target molecolari coinvolti nello sviluppo di patologie quali steatosi, colestasi, ritardo nello sviluppo cognitivo, necrosi tubulare nel rene
vi. Nel progetto PREMIER si sono studiati gli effetti dei farmaci sull'ambiente, costruendo un database di tali effetti.
vii. Nel progetto CONCERT Si sono sviluppati decine di modelli in silico e read-across per molte proprietà tossicologiche, ecotossicologiche, ambientali e chimico-fisiche, costituendo una libreria di centinaia di modelli disponibili gratuitamente.

- 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 contaminati 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 contaminati dei cibi quali le micotossine e bisfenoli, 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.

- 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.

- 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, all'interno del progetto nPETS.

- **VALUTAZIONE TOSSICOLOGICA DEL PARTICOLATO AMBIENTALE**

La linea di ricerca è focalizzata sulla valutazione del potenziale tossico del particolato ambientale su cellule di origine umana coltivate in 2D e in 3D. Per esaminare la tossicità generata dal particolato ambientale, abbiamo messo a punto test in vitro di mutagenicità, di vitalità cellulare, e di generazione dei radicali liberi dell'ossigeno. Le cellule esposte alle sostanze tossiche sono state anche caratterizzate dal punto di vista dell'espressione genica e dell'infiammazione. Poiché il polmone è il principale organo bersaglio del particolato ambientale abbiamo simulato in vitro l'unità funzionale del polmone. A tale scopo stiamo sviluppando un sistema di co-coltura in vitro per indagare la tossicità del particolato ambientale in condizioni simili a quelle fisiologiche utilizzando una co-coltura di cellule epiteliali ed endoteliali dell'alveolo polmonare e testando un dispositivo per la nebulizzazione delle particelle direttamente sulle cellule.

- **Nanoparticolati, nanomateriali e salute**

Uno dei principali obiettivi dei laboratori di Patologia Umana in Organismi Modello e di Nanobiologia è lo sviluppo di modelli affidabili per la valutazione del rischio associato all'esposizione di nanomateriali di differente natura e origine. I responsabili dei due laboratori hanno una comprovata esperienza nel campo della nanotossicologia, in particolare nella valutazione del rischio delle nanoparticelle di biossido di titanio e delle micro e nanoplastiche.

Questo ha permesso loro di vincere come coordinatori un progetto europeo quadriennale, con scadenza al termine del 2026, atto a definire protocolli altamente standardizzati per stabilire il rischio sostenibile nel campo della produzione di nanomateriali ad uso industriale che rivestono un grande impatto nella filiera produttiva mondiale (ossidi di grafene, quantum dots, nanopolimeri). La piattaforma metodologica che il gruppo di ricerca sta standardizzando si basa sulla determinazione quantitativa dell'interazione dei nanomateriali, in termini di letalità, tossicità, perturbazione dell'omeostasi, con differenti matrici biologiche quali colture cellulari, animali animali invertebrati (C. elegans e Daphnia Magna), e in un limitato numero di roditori. Questo approccio permette di comprendere sia le piccole alterazioni intracellulari che le importanti modificazioni sistemiche e multi-organo.

ATTIVITA' DI RICERCA NELL'AMBITO DELLA SALUTE PUBBLICA

Il Dipartimento di Ambiente e Salute conduce studi riguardanti l'identificazione di biomarcatori nutrizionali legati al consumo di cibo, basata sull'applicazione della metabolomica per lo studio dei "metabotipi" e "nutritipi" in relazione allo stato di salute. La ricerca comprende l'identificazione, mediante spettrometria di massa, di nuovi biomarcatori, sensibili e affidabili, basati sulla loro biodisponibilità e correlati all'assunzione di determinati alimenti e abitudini dietetiche, con particolare riferimento alla relazione con l'invecchiamento in salute e i fenotipi che caratterizzano la fragilità nell'anziano. Tale linea di ricerca si sta sviluppando grazie al supporto del Ministero della Salute RF GR-2021-12374128 con il progetto "Hippuric acid as a marker of frailty: characterization of the causative role of diet and gut microbiota in Italian older adults longitudinal population".
Inoltre il Dipartimento Ambiente e Salute partecipa nell'ambito del Paternariato Esteso ONFOODS (Research and innovation network on food and nutrition Sustainability, Safety and Security – Working ON Foods) negli spoke 6 e 7, in stretta collaborazione con il laboratorio di Farmacoepidemiologia e Nutrizione Umana (Dipartimento di Politiche per la Salute) coordinante le attività dell'Istituto Mario Negri nell'ambito di ONFOODS. Il Laboratorio di Chimica e Tossicologia dell'Ambiente e quello di Metaboliti e Proteine nella ricerca traslazionale sono coinvolti nello studio della malnutrizione (spoke 6) sia attraverso l'utilizzo di modelli in silico per predire molecole bioattive con effetto benefico/nocivo per lo stato di nutrizione, sia per quanto riguarda l'identificazione di traiettorie metaboliche come sentinelle dello stato di nutrizione in popolazioni fragili.

- Seguire nel tempo, dalla nascita e fino al compimento dei tre anni di età, la crescita e lo stato di salute di un gruppo (coorte) di bambini è la finalità dello **studio NASCITA (NAscere e creSCere in ITAlia)**, a cui partecipano 5.054 i bambini, nati tra il 1° aprile 2019 e il 31 luglio 2020, con le loro famiglie. I dati sono stati raccolti da 139 pediatri di libera scelta nel corso dei bilanci di salute e delle visite per patologia, 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.

Per 2.828 partecipanti è stato possibile raccogliere i dati per tutte le sei visite previste nel corso dei primi tre anni di vita.
Alcune delle analisi effettuate nel corso di questo studio riguardano: la frequenza e la durata dell'allattamento al seno, le tempistiche e modalità dello svezzamento e l'identificazione di fattori associati a una maggiore attitudine all'allattamento al seno; il monitoraggio della crescita (statura, peso, indice di massa corporea) dei bambini italiani, la stima della percentuale di bambini con sovrappeso o obesità e la valutazione di fattori di rischio di sovrappeso/obesità; la valutazione della conoscenza e adozione da parte dei genitori di alcune buone pratiche utili per lo sviluppo del bambino, come per esempio la lettura ad alta voce, l'ascolto della musica, e del loro impatto sullo sviluppo; la stima della prevalenza di

depressione post-partum nelle mamme e nei papà e di insorgenza di stress genitoriale; la frequenza di disturbi del sonno e il monitoraggio del neurosviluppo dei bambini. Le analisi sui primi due anni di vita sono state completate, mentre sono ancora in corso quelle dei dati raccolti ai tre anni.
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.

- 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 (RF-2019-12371228).** Il Laboratorio per la Salute Materno Infantile (ora Laboratorio di Epidemiologia dell'Età Evolutiva) del Dipartimento di Epidemiologia Medica ne è il coordinatore con due partner: ASST Santi Paolo e Carlo – Ospedale San Paolo, Milano e Azienda USL della Romagna. Questo studio ha lo scopo di supportare il processo di transizione (*transition*) dall'adolescenza all'età adulta, attraverso processi di cura integrati e coordinati. Il progetto riguarda nello specifico il passaggio all'età adulta dei giovani con tre patologie indice (diabete, epilessia e ADHD) e si articola in tre fasi: 1) survey rivolta ai servizi sanitari sulle modalità di gestione della *transition*; 2) studio qualitativo di valutazione di percorsi di transizione con il coinvolgimento di pazienti e operatori sanitari; 3) definizione di raccomandazioni sulla gestione della *transition* attraverso il consenso di un gruppo multidisciplinare. Alla prima fase del progetto hanno partecipato 204 centri (99 servizi pediatrici e 105 dell'adulto) per le 3 patologie target. Dai risultati è emerso un quadro frammentato circa le modalità di gestione della *transition*, evidenziando una grande variabilità del tempo effettivo richiesto per il passaggio e degli approcci per gestire colloqui e trasferimento di informazioni. Carenza di risorse, problemi organizzativi e difficoltà di comunicazione sono limiti percepiti da tutti i servizi, mentre sono emersi alcuni bisogni specifici come p.es. la necessità di un maggiore sostegno psicologico per i pazienti, sottolineato dagli operatori nell'ambito di diabete e epilessia, mentre gli operatori che seguono pazienti con **ADHD** hanno riferito maggiormente la necessità di una maggiore formazione.
  Alla seconda fase del progetto hanno partecipato, rispondendo a un'intervista strutturata o a un questionario, 52 pazienti con diabete; 40 con epilessia e 36 con ADHD e gli operatori che li hanno seguiti nella fase pre e post transizione.
  Nello specifico, di 27 ragazzi con ADHD ancora in carico ai servizi di neuropsichiatria al momento del passaggio, solo 12 sono stati inviati ad un servizio per adulti. Le motivazioni per i 15 mancati invii sono attribuibili alla carenza di risorse e di servizi pubblici specialistici dedicati. In 4 casi su 10 i giovani adulti hanno riportato di affrontare difficoltà relazionali, reattività e impulsività, difficoltà nel mantenere l'attenzione, sintomatologia ansiosa e assenza di attività lavorativa o coinvolgimento in un percorso di studi, senza l'assistenza da parte di uno specialista.
  I risultati delle prime due fasi del progetto sono stati condivisi con i partecipanti mediante la stesura di report dedicati, mentre la terza fase sarà svolta nel corso dei primi mesi del 2024.

- **Progetto Registro Italiano Sclerosi Multipla Patologie Correlate.**

Il progetto è attivo dal 2015 e ha come obiettivo 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 136 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 hoc dalla Struttura Tecnico Operativa del Mario Negri in accordo al Comitato di Gestione e Scientifico, permette una raccolta dati ampia (più di 1200 variabili), standardizzata e sicura (www.registroitalianosm.it). I dati del progetto vengono costantemente monitorati per la loro qualità e sono stati inoltre sviluppati una serie di indicatori che periodicamente vengono condivisi con i centri.
Molteplici le prospettive del progetto: analisi della casistica (la più ampia raccolta in un registro) e per progetti di ricerca ad hoc nonché partecipazione a pool di dati in collaborazione con EMA e con altri registri europei.
Il progetto è sostenuto da un finanziamento della Fondazione Italiana Sclerosi Multipla.

- **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 rapporto finale sul progetto è disponibile al linkhttps://www.fibrosicisticaricerca.it/wp-content/uploads/2023/09/Report-HTA_Progetto-1-su-30_FFC-Ricerca.pdf.

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

- **Progetto CASE DELLA COMUNITÀ: un'indagine con volontari e volontarie di un'associazione in Lombardia**

Le Case della Comunità sono strutture sanitarie concepite per erogare delle prestazioni multidisciplinari e per progettare interventi di carattere sociale e di integrazione sociosanitaria, dei luoghi in cui cittadini e cittadine possono trovare una risposta adeguata alle loro esigenze sanitarie e sociosanitarie. Le case della Comunità, previste dal Piano Nazionale di Ripresa e Resilienza (PNRR), sono state pensate per colmare la mancanza di una medicina del territorio ben strutturata e accessibile, nonché facilitare la presa in carico del paziente cronico e ridurre il carico di lavoro dei Pronto Soccorso. Il Dipartimento di Politiche per la Salute e il Laboratorio di ricerca per il coinvolgimento dei cittadini in sanità insieme alla Associazione di volontariato e di promozione sociale Auser hanno deciso di organizzare un'indagine per raccogliere informazioni su opinioni, aspettative e conoscenze sulle Case della Comunità da parte di cittadini e cittadine residenti in Lombardia e che svolgono attività di volontariato, in modo da evidenziare aspetti utili all'implementazione di queste strutture. L'indagine è un primo e valido tentativo di coinvolgere anche cittadini e comunità locali in questo dibattito così da comprendere meglio le opinioni e le aspettative del territorio al fine di favorire la creazione di servizi percepiti come più utili e una comunicazione più efficace con le Istituzioni.
All'indagine hanno risposto più di 1.000 volontari, tutti i risultati al link: https://lombardiasociale.it/2023/11/27/case-della-comunita-opinioni-di-cittadini-e-cittadine/#post-22098-footnote-ref-1.

- 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 2023, il contributo del Dipartimento di Medicina Renale alle attività GBD è riconosciuto nella pubblicazione di 4 lavori sulle riviste internazionali Lancet, Lancet Global Health, Lancet Haematology e Journal of American College of Cardiology. Inoltre, il Dipartimento partecipa da anni alle attività del gruppo GBD Italia che per il 2023 si è tradotto in 1 pubblicazione sull'impatto dell'inquinamento

atmosferico sulla mortalità e incidenza di malattie comunicabili e non-comunicabili in Italia nel periodo 1990-2019 (Int. J Public Health).

- **Progetto LIVELY**

La prevalenza dell'**obesità infantile** è aumentata di 10 volte negli ultimi 40 anni, costituendo una delle problematiche più rilevanti per la salute pubblica, poiché rappresenta un fattore di rischio per lo sviluppo, in età adulta, di malattie come quelle cardiovascolari, diabete e disturbi psicologici e sociali.
Lo studio **LIVELY** si propone di identificare i determinanti dell'obesità infantile e valutare la fattibilità di strategie educative multidimensionali per promuovere e migliorare gli stili di vita, con l'obiettivo finale di prevenire sovrappeso e obesità nei bambini di età compresa tra 5 e 11 anni. La scuola, dove gli studenti trascorrono la maggior parte del loro tempo, rappresenta il contesto ideale per implementare strategie di prevenzione, promuovendo stili di vita più sani e sostenibili e migliorando le attitudini comportamentali. Lo studio LIVELY viene svolto nella scuola-Istituto Comprensivo "Luigi Cadorna"- di Milano. Durante l'anno scolastico, ogni classe viene coinvolta in interventi educativi multidimensionali che affrontano i temi della nutrizione sana e sostenibile. Gli interventi educativi comprendono lezioni frontali, giochi e attività di disegno per stimolare e massimizzare l'apprendimento e il coinvolgimento dei bambini. Il target previsto di bambini da includere nello studio è di 300. Lo studio è attualmente in corso e si concluderà a ottobre 2024.

- **Drug repurposing**

Il “drug repurposing” mira a trovare nuovi usi per i farmaci esistenti per trattare condizioni con esigenze mediche insoddisfatte. Questo campo in via di sviluppo ha il potenziale per essere meno costoso e significativamente più rapido rispetto al processo tradizionale di “drug discovery”. Si tratta quindi di una strategia valida e attraente, specialmente per le patologie rare e trascurate, per il cancro o per le minacce emergenti per la salute pubblica come il COVID-19. Tuttavia, numerose barriere - economiche, normative, politiche - e inefficienze - ecosistema frammentato, conoscenze limitate sul percorso completo di riproposizione, carenze di finanziamento - frenano ancora il “repurposing” dei farmaci. Il gruppo di Farmacogenomica partecipa a un grosso progetto sostenuto dall’Unione Europea (REMEDI4ALL) che si propone di sviluppare una piattaforma completa, accessibile e standardizzata che fornisca le competenze, gli strumenti e le risorse necessarie in tutte le fasi del percorso di repurposing. Il nostro gruppo, oltre a partecipare ai gruppi che si occupano di sviluppare i vari progetti di ricerca nell’ambito della piattaforma, sta contribuendo alla creazione di un catalogo di risorse in silico per il repurposing dei farmaci ed utilizza numerosi strumenti computazionali per l’analisi dei dati genomici, biochimici e clinici. Una particolare attenzione è dedicata ad un progetto che propone l’utilizzo di valproato e simvastatina, due farmaci rispettivamente sviluppati come antiepilettico e per l’abbassamento del colesterolo, in combinazione con la chemioterapia standard, nel tumore metastatico del pancreas. In questo ambito, abbiamo studiato le potenziali interazioni tra i bersagli dei due farmaci, che possano spiegare la loro azione sinergica. Stiamo inoltre analizzando una serie di dati di trascrittomica con lo scopo di studiare l’azione sinergica a livello

di regolazione della trascrizione di mRNA e miRNA e di identificare possibili marker di resistenza.

- **Principi FAIR e riproducibilità, condivisione e riutilizzo dei dati**

Il progresso della conoscenza nella medicina traslazionale è sempre più legato all'utilizzo di grandi moli di dati di diversa natura (multiomici, da diagnostica per immagini, clinici, amministrativi, dati del mondo reale - "real world data"). Perché questi dati siano utilizzabili, devono rispondere ad un insieme di criteri che sono stati riassunti nell'acronimo FAIR (Findable, Accessible, Interoperable, and Reusable). Un altro criterio fondamentale è la riproducibilità, che viene migliorata condividendo i dati e rendendo trasparenti i metodi di ricerca, che garantisce che i risultati degli studi possano essere verificati in modo indipendente. Infine, l'effettivo riutilizzo dei dati può massimizzare l'utilità di queste risorse, evitando inutili duplicazioni di sforzi e costi, consentire l'accesso a una gamma di dati più ampia di quella che potrebbe essere generata dai singoli gruppi di ricercatori, aiutare a convalidare e riprodurre i risultati precedenti, generare nuove ipotesi che non erano state inizialmente esplorate nello studio originale. L'Unità di Farmacogenomica è molto attiva all'interno della comunità dei ricercatori che si occupano di dati (Data Scientists) attraverso la partecipazione a progetti europei (PERMIT – PERsonalized medIcine Trials, EOSC-Life -European Open Science Cloud for Life Sciences). All'interno di questo filone di ricerca si collocano i due lavori pubblicati quest'anno, che riportano raccomandazioni per una ricerca preclinica robusta e riproducibile e per l'implementazione dei principi FAIR nella gestione dei dati nelle scienze della vita.

ATTIVITA' DI RICERCA NELL'AMBITO DELL' EPIDEMIOLOGIA MEDICA

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:

- **Valutazione della qualità dell'assistenza in Pronto Soccorso**

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

- **La qualità della cura nelle unità di terapia semintensiva**

Gli obiettivi principali sono due:
1) Realizzare un sistema di valutazione continua della qualità dell'assistenza nelle Terapie Semintensive, orientato al miglioramento delle cure; 2) Promuovere l'attività di ricerca clinica in questi reparti.

- **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.
Impatto del mancato riconoscimento della sepsi nel paziente adulto che si presenta in Pronto Soccorso si svolge nel corso del 2023 ed è stato realizzato grazie ad un contributo di Menuccia Grosso Onlus. Come obiettivo ha avuto quello di quantificare l'impatto legato al ritardato riconoscimento della sepsi in PS, in termini di mortalità e costi. Inoltre, si è voluto studiare il fenomeno del ritardato riconoscimento delle sepsi, tramite l'analisi di dati di accesso ai PS di Regione Lombardia dal 2015 al 2022 (dalle analisi effettuate si è pubblicato il seguente lavoro: Bosetti C, Santucci C, Signorini F, Cortellaro F, Villa G, Rossi C, Nattino G, Bertolini G. Diagnosis of sepsis in the emergency department: a real-world analysis from Lombardy, Italy. Intern Emerg Med 2023; E-pub).

- **SOPAPP (Orientamento del bisogno di cura non urgente: dal sistema dell'emergenza-urgenza verso i servizi della rete territoriale)**

Ha inizio nel 2023 grazie ad un finanziamento di AREU (Agenzia Regionale di Emergenza-Urgenza). Per far fronte all'epidemia da SARS-CoV-2, AREU ha messo a punto un servizio di triage telefonico chiamato SOPAPP (Sala Operativa di Approfondimento), per garantire la presa in carico territoriale e il follow-up dei pazienti con CoViD-19 sospetto o accertato, senza insufficienza respiratoria, ottenendo risultati estremamente positivi. AREU ha avviato ora un programma per estendere l'attività della SOPAPP ad altre problematiche non urgenti, non più legate solamente a CoViD-19, denominato SOPAPP avanzata. L'obiettivo di questo progetto di ricerca è quello di valutare l'efficacia e la sicurezza del programma di SOPAPP avanzata. In particolare, l'efficacia del programma è misurata valutando la riduzione nell'utilizzo, per pazienti con problematiche non urgenti, di risorse destinate all'emergenza-urgenza; la sicurezza si riferirà alla capacità del programma di garantire ai pazienti le stesse opportunità di diagnosi e cura che avrebbero avuto con il regime attuale.

- **Progetto Muse**

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, ha coinvolto 30 TI prevendo la raccolta dei dati clinici e dei tamponi effettuati ai pazienti reclutati nel progetto. Nel corso del 2023, si sono concluse le

analisi fenotipiche e genotipiche dei ceppi isolati, che sono state effettuate dal Laboratorio di Microbiologia dell'Ospedale di Careggi, Firenze. Sono in corso invece, presso il Laboratorio di Clinical Data Science, le analisi relative all'indicatore di trasmissione delle CRE.

- **Studi di ricerca epidemiologica osservazionale**

Nel corso del 2023 il laboratorio di epidemiologia clinica è inoltre stato coinvolto nel disegno, conduzione e analisi statistica di in una serie di studi di ricerca epidemiologica osservazionale di interesse ospedaliero:

i. 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 di mettere a disposizione del Centro una cartella clinica elettronica che possa coniugare l'ottimale gestione clinica alle esigenze di ricerca.
ii. Il laboratorio collabora stabilmente con il Dipartimento di Malattie Infettive del Policlinico di Milano, contribuendo alla progettazione e alle analisi statistiche dei dati raccolti in diversi studi osservazionali focalizzati sulle infezioni nosocomiali. Nel 2023 sono stati analizzati e pubblicati (a), i dati relativi alla coorte dei 435 pazienti ricoverati nell'unità di terapia intensiva COVID-19 dell'Ospedale Hub di Milano (Fiera), nel periodo ottobre 2020-maggio 2021, allo scopo di stimare l'incidenza di colonizzazione e infezioni da organismi multifarmaco-resistenti (MDRO) nei pazienti sottoposti a ventilazione meccanica. Sono state inoltre svolte due analisi preliminari dei dati relativi ad uno studio prospettico multicentrico, il cui obiettivo primario è di esplorare l'associazione tra variazioni nella composizione del microbiota polmonare e l'insorgenza di Polmonite Associata a Ventilazione Meccanica (VAP). Lo studio, iniziato nel giugno del 2020 si concluderà nell'aprile del 2024, prevede l'inclusione di tutti i pazienti sottoposti a ventilazione meccanica per motivi non-polmonari, presso otto unità di terapia intensiva partecipanti. A dicembre 2023 risultavano arruolati oltre 500 pazienti, 115 dei quali hanno sviluppato una VAP nei primi 15 giorni di intubazione. Scopo della prima analisi preliminare è stato quello di valutare le principali caratteristiche del microbiota polmonare (alfa e beta diversità), e delle loro relative variabilità, informazioni utili a definire la miglior strategia di analisi dei dati definitivi. La seconda analisi, indagava le le variazioni nella stima della proporzione di eventi VAP (outcome principale dello studio), di vari criteri diagnostici applicabili (i.e., diagnosi clinica, diagnosi ottenuta adottando vari criteri suggeriti a vario scopo in lettera). Entrambe le analisi sopra descritte sono state oggetto di pubblicazione (Multidrug-resistant bacterial colonization and infections in large retrospective cohort of mechanically ventilated COVID-19 patients. DOI: https://doi.org/10.3201/eid2908.230115; Changes in upper airways microbiota in ventilator-associated pneumonia. https://doi.org/10.1186/s40635-

023-00496-5;Comparison of multiple definitions for Ventilator-Associated Pneumonia in patients requiring mechanical ventilation for non-pulmonary conditions: preliminary data from PULMIVAP, an Italian multi-centre cohort study. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jhin.2023.07.023).

- **GIVITI – Gruppo Italiano per la Valutazione degli Interventi in Terapia Intensiva**

Nell'ambito di ricerca epidemiologica si colloca il Laboratorio di Clinical Data Science, che dal 1991 coordina un gruppo di ricerca noto come GiViTI – Gruppo Italiano per la Valutazione degli Interventi in Terapia Intensiva. Da più di 30 anni il GiViTI, che coinvolge circa 200 reparti di Terapia Intensiva, promuove e attua progetti di ricerca indipendenti, orientati alla valutazione e al miglioramento della qualità dell'assistenza nelle TI aderenti rappresentando uno dei più vasti e attivi gruppi di ricerca al mondo in area critica. Nel 2021 il GiViTI si è costituito in Associazione, garantendo al gruppo un'entità giuridicamente riconosciuta. A partire dal 2023, il Laboratorio di Clinical Data Science ha ampliato il suo impegno divulgativo, con un focus particolare sulla diffusione dei progetti di ricerca svolti all'interno della rete. Questo sforzo si traduce in nuove collaborazioni e nella creazione di un sito web più accessibile, che mira a coinvolgere non solo istituzioni accademiche e sanitarie, ma anche un pubblico più ampio interessato alle tematiche trattate.

All'interno di un contesto collaborativo, nel settembre 2023 il GiViTI è entrato a far parte della rete LOGIC, una piattaforma internazionale di registri di Terapia Intensiva che mira al confronto e al miglioramento della qualità dell'assistenza.

Una collaborazione significativa è stata avviata anche con il Dipartimento di Scienze della Sanità Pubblica e Pediatriche dell'Università degli Studi di Torino a partire dal 2023. Questo progetto confronta i dati di prevalenza ed incidenza delle infezioni correlate all'assistenza raccolti nelle Terapie Intensive del gruppo GiViTI con le stime di incidenza misurate attraverso il terzo Piano per la Salute italiano (PPS).

- **Progetto MargheritaPROSAFE**

Fulcro degli studi clinici promossi dal gruppo è il Progetto MargheritaPROSAFE, una linea di ricerca orientata a valutare e migliorare 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 finanzia-mento della Unione Europea è stato infatti possibile coinvolgere Cipro, Grecia, Israele, Slovenia e Ungheria. Per supportare al meglio gli studi futuri e quelli in corso, nel 2023 è stato promosso un ulteriore sviluppo del software che migliorerà l'interazione tra utente ed

applicativo. Inoltre, sono state implementate nuove funzionalità che consentono l'inserimento automatico dei dati provenienti dalle Cartelle Cliniche Elettroniche e dai sistemi informativi di gestione dei ricoveri già presenti negli ospedali, in questo modo sarà possibile diminuire il carico di lavoro da parte dei clinici. Nell'anno 2023 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 cardiochirurgico e quello pediatrico.

- **Progetto CCM**

Negli ultimi anni, il Laboratorio ha inoltre attivato diverse collaborazioni a livello istituzionale. A partire dal 2020, è stato avviato un progetto CCM sulla sorveglianza delle infezioni correlate all'assistenza, con il coinvolgimento dell'Istituto Superiore di Sanità come capofila, nell'ambito del quale forniamo i dati sulla sorveglianza delle infezioni correlate all'assistenza all'European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC).

- **Progetto europeo United4Surveillance**

Sempre nell'ambito della sorveglianza delle infezioni, il Laboratorio di Clinical Data Science collabora con l'Istituto Superiore di Sanità, il Ministero della Salute e l'Agenzia Regionale di Sanità Toscana (ARS) all'interno del progetto europeo United4Surveillance. L'obiettivo di questa collaborazione è creare un collegamento tra i dati clinici raccolti attraverso i software di raccolta dati presenti nei reparti di Terapia Intensiva e i dati microbiologici disponibili presso l'ARS, al fine di sviluppare un sistema di sorveglianza e segnalazione degli eventi in tempo reale e di attuare interventi preventivi nel controllo della diffusione delle infezioni correlate all'assistenza.

- **Rete TIPNET**

In ambito pediatrico invece, i dati raccolti hanno permesso di avviare una collaborazione con la rete TIPNET, un registro multicentrico permanente che coinvolge 24 unità di Terapia Intensiva pediatrica presenti sul territorio nazionale.

- **ADHD**

Inoltre, è stato effettuato uno studio in collaborazione con il Laboratorio di Salute Pubblica dell'Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri in merito alla patologia dell'ADHD. Infatti, sebbene la terapia farmacologica dell'ADHD sia stata ampiamente studiata, poco è stato fatto per confrontare i diversi approcci terapeutici (ad esempio, terapia farmacologica vs. trattamenti psicologici) e ancora meno è stato fatto per confrontare l'esito della terapia tra centri. Lo studio è stato effettuato utilizzando i dati del Registro Regionale ADHD su 1429 pazienti arruolati in 16 centri ADHD nel periodo 2011-2022.

- **Studio StART**

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 proseguono gli sviluppi per l’interfacciamento della cartella clinica MargheritaTre con il database di raccolta dati MargheritaProsafe.

- **Cartella clinica intelligente per la Terapia Intensiva**

Prosegue lo 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 80 reparti di Terapia Intensiva hanno adottato la cartella clinica elettronica denominata MargheritaTre.

Lo scorso anno, a partire dai dati di MargheritaTre, è stato possibile creare un database anonimizzato e accessibile all’intera comunità scientifica. Questo dataset ha dato vita al primo Critical Care Datathon basato su dati multicentrici italiani. Si tratta di un evento innovativo in cui i partecipanti si sfidano analizzando i dati provenienti dalla cartella clinica elettronica MargheritaTre, rispondendo a quesiti clinici di particolare rilevanza nel campo della terapia intensiva. L’evento datathon è stato organizzato in collaborazione con il Politecnico di Milano – Polo territoriale di Lecco. In preparazione a questo evento, è stata condotta una collaborazione con il Laboratorio di Ricerca per il Coinvolgimento dei Cittadini in Sanità dell'Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri IRCCS. In questo contesto, è stata creata e diffusa una survey volta a raccogliere l'opinione dei cittadini in merito alla condivisione dei dati clinici.

Una delle domande cliniche proposte durante l’evento Datathon riguardava i modelli di previsione e sistemi di supporto alla decisione nel contesto dell’insufficienza renale acuta. In merito a questa tematica, si è creata una collaborazione con il Rotary Club di Lecco con l’obiettivo di migliorare gli algoritmi per predire l'insorgenza di insufficienza renale acuta nei reparti di TI.

- **Studio 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. Per accelerare le tempistiche del processo di analisi dei campioni, è stato coinvolto nello studio il laboratorio di Farmacodinamica e Farmacocinetica del Dott. Marco Gobbi, Dipartimento di Biochimica e farmacologia Molecolare dell'Istituto di Ricerche Farmacologiche "Mario Negri" IRCCS di Milano. E' inoltre iniziato lo sviluppo del primo modello di farmacocinetica per l'antibiotico Piperacillina/Tazobactam. Lo studio AbioKin ha previsto la costituzione di una biobanca sfruttabile per studi futuri sulle infezioni in Terapia Intensiva. Pertanto, i campioni saranno utilizzati per un nuovo studio osservazionale che ha lo scopo di misurare la risposta al trattamento antibiotico attraverso l'analisi delle variazioni dei livelli plasmatici di alcuni biomarcatori di infezione e sepsi.

- **Studio ASAP**

Nel 2023 si è concluso 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 € che 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 diverse fasi: una di analisi quantitativa in corso di svolgimento ed una qualitativa per la quale nel mese di settembre 2023 è stato pubblicato un articolo riguardante gli insegnamenti appresi dai cambiamenti organizzativi avvenuti nei centri partecipanti allo studio, durante la pandemia.

Il Laboratorio di Epidemiologia degli Stili di Vita nel corso del 2023 ha portato avanti:

- **Studi sui nuovi prodotti di tabacco e contenenti nicotina**

Gli studi inerenti riguardano le sigarette elettroniche, i prodotti a tabacco riscaldato (come IQOS e Glo), e i sacchetti di sali di nicotina. In particolare, il Laboratorio di Ricerca sugli Stili di Vita si occupa di studiare la diffusione di questi prodotti sia tra i giovani che tra gli adulti italiani ed europei, e di identificarne i pattern di consumo (Gallus S et al, J Epidemiol 2023; Gorini G et al, Prev Med 2023). Si sta infatti analizzando l'uso esclusivo e/o combinato delle sigarette tradizionali e dei nuovi prodotti contenenti nicotina per valutare l'impatto dell'utilizzo di questi prodotti in termini di salute pubblica e controllo del tabagismo. E' stata inoltre costituita una

coorte di adulti italiani che consentirà di quantificare gli effetti a breve/medio termine sulla salute dell'utilizzo delle sigarette elettroniche e dei prodotti a tabacco riscaldato. Con la partecipazione alla seconda edizione del progetto collaborativo europeo Joint Action on Tobacco Control (JATC 2) il Laboratorio si pone anche l'obiettivo di contribuire a garantire la qualità dei controlli degli ingredienti e delle emissioni dei prodotti di tabacco e delle sigarette elettroniche.

- **Studi sul Fumo passivo**

Studi sulla diffusione dell'esposizione al **fumo passivo** e agli aerosol passivi della sigaretta elettronica e dei nuovi prodotti a tabacco riscaldato, 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, tramite la conduzione di revisioni sistematiche e meta-analisi, viene fornita una quantificazione aggiornata e precisa dell'associazione tra fumo di sigaretta ed esposizione al fumo passivo e rischio di tumore. Infine, all'interno della JATC 2, il Laboratorio di Ricerca sugli Stili di Vita contribuisce all'identificazione di ostacoli e opportunità per l'espansione e il miglioramento delle politiche per garantire ambienti liberi da fumo e da aerosol passivo in Europa.

- **Studi sull'Acufene**

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 Ricerca sugli Stili di Vita dell'Istituto Mario Negri di Milano studia quanto questo disturbo sia frequente nella popolazione e quale sia la sua distribuzione a seconda del genere e della classe di età, conducendo sia indagini trasversali sulla popolazione generale italiana ed europea, che revisioni sistematiche e meta-analisi. Tramite la conduzione e analisi di studi caso-controllo e di coorte vengono identificati i potenziali fattori di rischio legati all'insorgenza e alla severità dell'acufene, tra cui, ad esempio, la dieta e altri fattori nutrizionali (Jarach CM et al, Nutrients 2023). Il Laboratorio sta inoltre quantificando i costi sanitari e sociali legati alla gestione dell'acufene per coloro che soffrono di questo disturbo e sta conducendo una revisione sistematica per identificare i trattamenti e le terapie efficaci per la cura dell'acufene.

ATTIVITA' IN AMBITO COVID

Presso il Dipartimento di Politiche per la salute.

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:

- 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 sono stati pubblicati degli articoli e recentemente un articolo sull'associazione tra DPP-4i, GLP-1 RA, SGLT-2i e le complicanze da COVID-19, sulla rivista scientifica Clinical Therapeutics. 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.
- 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 ondate della pandemia da COVID-19. 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. L'articolo è stato pubblicato sulla rivista scientifica Frontiers in Cardiovascular Medicine.
- 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 che sono stati affetti da Covid-19. L'indagine si è conclusa a dicembre 2022. Sono state completate le analisi e i risultati pubblicati sulla rivista scientifica Journal of Primary Care and Community Health.
- L'acido ursodesossicolico (UDCA), utilizzato per trattare le malattie del fegato, si è dimostrato, negli esperimenti *in vitro*, efficace nel bloccare l'ingresso del virus di SARS-COV-2 nelle cellule. Tuttavia, i dati *in vivo* sono scarsi. E' stata analizzata l'associazione tra l'uso di UDCA e la prevenzione dell'infezione da SARS-COV-2 e del suo impatto sulla gravità della malattia nei soggetti infettati. Le analisi sono state condotte utilizzando i dati del DB della regione Lombardia partendo dai soggetti con una storia pregressa di malattie epatiche e che di conseguenza possono essere stati esposti all'UDCA. L'analisi ha incluso pazienti delle prime e seconde ondate della pandemia, infettati e non. Sono state completate le analisi e i risultati pubblicati sulla rivista scientifica Journal Internal of Medicine.
- All'interno della convenzione con la Regioine Lombardi è inoltre prevista l'analisi del DB COVID-19 finalizzata allo studio degli effetti a lungo termine da COVID-19, con particolare focus sull'associazione tra l'infezione virale e le complicanze cardiovascolari, in termini di

ospedalizzazioni, accessi al pronto soccorso e ricorso alle prestazioni e visite ambulatoriali.

- Il Dipartimento di Epidemiologia Medica 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. In ambito le attività di ricerca condotte nel corso del 2023 hanno riguardato in particolare il monitoraggio della qualità della prescrizione degli antibiotici da parte dei pediatri di libera scelta, l'accesso alle cure per disturbi psichiatrici da parte degli adolescenti prima e dopo la pandemia COVID-19 e l'analisi del profilo dei farmaci prescritti a bambini con disturbi dello spettro autistico.

Presso il Dipartimento Ambiente e Salute, Laboratorio di Indicatori Epidemiologici Ambientali:

È stata avviata una **sorveglianza della presenza di Sars-CoV-2 nei reflui urbani.** Il Laboratorio ha inizialmente messo a punto un metodo per rilevare SARS-CoV-2 nei reflui urbani e creato una rete di sorveglianza nella popolazione lombarda ed ha in seguito aderito alla rete di monitoraggio SARI coordinata dall'Istituto Superiore di Sanità che effettua un monitoraggio a livello nazionale in accordo con le direttive della comunità europea. Questo approccio, che è un'applicazione dell'epidemiologia delle acque reflue", si basa sulla misurazione dei virus nei reflui urbani e permette di rilevare la reale diffusione di un virus nella popolazione poiché include l'escrezione sia di soggetti sintomatici che asintomatici. È in grado, inoltre di fungere da sistema di allerta precoce poiché i risultati, disponibili in tempi rapidissimi, possono identificare l'insorgenza di nuovi picchi epidemici anticipando di un paio di settimane gli indicatori clinici. In collaborazione con il laboratorio di Epidemiologia Clinica, questo studio applicato alla città di Milano ha permesso di identificare l'effetto benefico del vaccino anti-Covid sull'incidenza di infezioni gravi e ricoveri ospedalieri.

Presso l'Unità Operativa Complessa Malattie Renali:

COVID-19 è caratterizzato dalla comparsa di numerosi sintomi con un ampio spetro di gravità, i quali richiedono diverse modalità di cura in base ai differenti gradi in cui si manifesta la malattia. L'intervento terapeutico all'inizio di sintomi lievi/moderati di COVID-19 a domicilio potrebbe rappresentare un'opportunità per **prevenire la progressione verso forme più severe della malattia e di complicanze a lungo termine.** Poiché i sintomi iniziali di COVID-19 in generale riflettono un'eccessiva risposta infiammatoria all'infezione virale. In un articolo di revisione della letteratura abbiamo evidenziato come l'uso di farmaci anti-infiammatori, in particolare farmaci anti-infiammatori non-steroidei (NSAIDS), in pazienti a domicilio con sintomatologia terapeutica. Per questi pazienti, alcuni studi osservazionali hanno valutato l'uso di farmaci NSAID, in pazienti a domicilio con sintomatologia iniziale lieve/moderata possa rappresentare una valida strategia terapeutica. Per questi pazienti, alcuni studi osservazionali hanno valutato l'uso di farmaci NSAID in particolare inibitori relativamente selettivi dell'enzima ciclossigenasi 2-cox2), spesso parte di un protocollo multifarmacologico applicato secondo un algoritmo sequenziale. Gli studi hanno dimostrato l'efficacia di queste

strategie, in quanto il controllo dei sintomi iniziali ha protetto i soggetti dalla progressione della malattia verso forme più severe che da ultimo richiedono il ricovero in ospedale riducendo così in modo importante la pressione sul sistema ospedaliero nel corso della pandemia (Perico N et al., *Lancet Infect Dis.*, 2023).

- 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).

- **Registro multicentrico (COVID-19 Network Working Group**

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).

Presso il Centro di Genetica Umana:

Lo **studio ORIGIN** ha voluto identificare i fattori genetici che predispongono allo sviluppo di forme gravi di polmonite in seguito ad infezione da SARS-Cov-2 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. I campioni di DNA sono stati analizzati mediante un DNA microarray, in grado di leggere centinaia di migliaia (850,000) siti di variazione (polimorfismi) su tutto il genoma. Questo array è arricchito in varianti di geni umani che codificano per proteine e sistemi implicati nell'ingresso del virus nelle cellule umane e nella risposta del nostro sistema immunitario all'infezione da SARS-Cov-2. Sono state analizzate per ogni persona 8.910.189 varianti. Una sola regione genomica (locus) ha raggiunto e superato il valore di significatività in rapporto a tutto il genoma. Il locus si trova nel cromosoma 3 (nella regione 3.2.31) e comprende i geni CCR9, CXCR6 che codificano recettori delle chemochine, e il gene LZTFL1 che regola lo sviluppo e la funzione delle cellule epiteliali nelle vie respiratorie. Da notare, le variazioni in questi geni (che si ereditano tutti insieme) costituiscono un aplotipo di rischio che viene dai Neanderthal. I risultati dimostrano inoltre che dei pazienti con forme lievi, il 15% aveva l'aplotipo di Neanderthal, che raggiungeva il 28% in

quelli con COVID-19 severo, per arrivare al 28% in quelli con COVID-19 severo, per arrivare al 33% in chi aveva avuto bisogno di terapia intensiva o addirittura di essere intubato. Chi è stato esposto al virus ed era portatore di questo aplotipo aveva più del doppio del rischio di sviluppare COVID grave (polmonite) quasi 3 volte di avere bisogno di terapia intensiva e un rischio ancora maggiore di avere bisogno di ventilazione meccanica rispetto ai soggetti che non portavano questo aplotipo. (Breno M et al., *iScience*, 2023).

Presso il Dipartimento di Bioingegneria:
In particolare, il Laboratorio di Medical Imaging si è occupato dello studio degli effetti di COVID-19 a livello cerebrale a breve e lungo termine.

- In un primo studio sono stati valutati 215 pazienti COVID-19 con manifestazioni neurologiche (olfattive e/o altre quadri neurologici) e 36 controlli normali attraverso tecniche di risonanza magnetica multiparametrica. Nei pazienti COVID-19 si è osservato un incremento significativo del parametro "coefficiente di diffusione apparente" (ADC) nella materia bianca e in diverse regioni della materia grigia del cervello. I valori di ADC erano correlati in modo significativo con il tempo intercorso tra l'inizio della malattia e l'esecuzione di MRI. I pazienti ospedalizzati presentavano maggiori alterazioni di ADC in tutte le aree cerebrali rispetto a chi non era stato ricoverato. Queste alterazioni erano superiori in pazienti con deficit cognitivo o di memoria e in chi aveva sviluppato encefalite o meningite, ma non erano associate alla durata del ricovero ospedaliero o alla necessità di terapia intensiva (Caroli A et al., *NeuroImage Clinical*, 2023).

- In un altro studio ci si è focalizzati sulle alterazioni del sistema olfattivo in pazienti con COVID-19 e sintomi neurologici. È noto infatti che le più comuni complicanze neurologiche in COVID-19 riguardano la perdita o riduzione del senso dell'olfatto, che si verificano soprattutto nelle fasi iniziali della malattia. Le immagini di MRI del sistema olfattivo sono state analizzate con una procedura semi*automatica appositamente sviluppata. I risultati hanno dimostrato che i pazienti COVID-19 (n=196) presentavano volumi del bulbo olfattivo destro, sinistro o combinati significativamente ridotti rispetto a quelli di un gruppo di controllo (n=39) soggetti. Nei pazienti COVID-19, l'atrofia del bulbo olfattivo non era in rapporto all'età. I volumi del bulbo olfattivo erano paragonabili in chi presentava solo sintomi neurologici. I risultati di questo studio dimostrano con approccio di MRI danni del sistema olfattivo in pazienti COVID-19 con complicanze neurologiche (Capelli S et al., *Journal of Neurology*, 2023).

- **Imaging toracico e cerebrale nella patologia covid-19**

La linea di ricerca è focalizzata sullo studio degli effetti della patologia COVID-19 a livello toracico e cerebrale, a breve e lungo termine. Il Laboratorio di Medical Imaging ha messo a punto una tecnica per la quantificazione della compromissione polmonare su immagini TAC, 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 di Medical Imaging è coinvolto nell'elaborazione di diversi tipi di immagini a risonanza magnetica,

con l'obiettivo di valutare i danni cerebrali conseguenti all'infezione e studiarne l'evoluzione nel tempo.

Presso il Dipartimento di Medicina Molecolare:

- Lo studio ADAPTIVE ha permesso di 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 pubblicato sulla rivista *Frontiers in Immunology* (Perico L et al., *Front Immunol*., 2023)

- 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), 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. Sulla base di questi risultati *in vitro*, il Laboratorio si è occupato della messa a punto di 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. In topi transgenici per l'enzima umano ACE2, l'iniezione di proteina S1 causa una perdita precoce della proprietà anti-infiammatorie ed anti-trombotiche dell'endotelio polmonare. Questo danno endoteliale è accompagnato dalla formazione di depositi della proteina del complemento C3 nelle cellule endoteliali e ad aumento dell'espressione del recettore C3aR. A questi danni precoci seguono poi danni a carico delle cellule epiteliali degli alveoli polmonari, formazione di aggregati piastrinici, infiammazione e fibrosi. Il trattamento con un antagonista del recettore C3a (C3aRa) limita l'accumulo di C3 e l'attivazione di C3a/C3aR, mitigando la trombo-infiammazione vascolare e la fibrosi polmonare indotta dalla proteina S1. Questo studio suggerisce quindi che C3aRa potrebbe essere una strategia terapeutica efficace per limitare i danni polmonari causati dalla proteina S1 di SARS-CoV-2 (Perico L et al., *Sci Rep*., 2023).

- Attraverso un progetto finanziato dal Ministero della Salute nell'ambito BANDO RICERCA FINALIZZATA (Giovani Ricercatori) questo modello *in vivo* sarà utilizzato per testare diversi possibili interventi terapeutici, quali ad esempio il trattamento con medium

condizionato di cellule mesenchimali staminali, per ridurre l'infiammazione indotta dalla proteina S1 di SARS-CoV-2 ed indentificare composti efficaci e sicuri per i pazienti con forme severe 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.

- La condivisione di dati ed esperienze tra medici e ricercatori è fondamentale per aumentare adeguatamente la conoscenza degli effetti a lungo termine del COVID. In questa direzione, Fondazione CARIPLO finanzia il progetto di rete "Lombardia Long COVID Network" (LLC) mirante a raccogliere i dati disponibili relativi al COVID disponibili in diversi archivi provenienti da ospedali, reti di medici di medicina generale e database amministrativi e sviluppare una piattaforma web (proof-of-concept) dove tutti questi dati possano essere uniti e interrogati per rispondere alle domande elaborate da un panel di medici esperti nella gestione del COVID a lungo termine. La piattaforma di prova consentirà un reciproco scambio di dati, con consulenza in tempo reale sugli adeguamenti suggeriti delle migliori pratiche basati sulle prove disponibili. Inoltre, la piattaforma proof-of-concept fornirà materiale didattico per gli operatori sanitari e il pubblico in generale e modelli per procedure operative standard che potrebbero essere ampiamente implementate tra gli operatori sanitari.

- Durante la pandemia da COVID-19, tre laboratory del Dipartimento di Biochimica e Farmacologia Molecolare (il Laboratorio di Farmacocinetica e Farmacodinamica, il Laboratorio di Nanobiologia e il Laboratorio di Patologia Umana in Organismi Modello) hanno unito le loro competenze in ambito farmacologico, biochimico, biofisico e computazionale per sviluppare una piattaforma per la ricerca di nuovi farmaci in grado di combattere l'infezione da SARS-CoV-2. La piattaforma consiste di cinque fasi sperimentali interconnesse per identificare nuove molecole in grado di impedire l'accesso del virus nelle cellule. Queste fasi sono state ottimizzate e validate attraverso lo screening di una grande varietà di peptidi e molecole che abbiamo identificato come potenzialmente utili per contrastare l'infezione. Nonostante la fase di emergenza del COVID-19 sia conclusa, il gruppo di ricerca vuole fare tesoro dell'esperienza negativa pregressa che ha trovato il mondo scientifico impreparato ad affrontare infezioni inaspettate. Nuovi studi sono in corso per trasformare questa piattaforma in uno strumento permanente in grado di studiare rapidamente nuove varianti di SARS-CoV-2 o di altri patogeni.

- 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.

Presso Dipartimento di Epidemiologia Medica:
Sono stati promossi diversi studi riguardanti la pandemia COVID:

- **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:

- 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:
  i. Monitorare e descrivere il volume di pazienti COVID-19 in carico ai PS italiani.
  ii. Valutare l'impatto prognostico di caratteristiche cliniche e sociodemografiche, fattori di rischio e patologie preesistenti.
  iii. Sviluppare un modello predittivo che fornisca una stima della prognosi sulla base di molteplici fattori rilevanti.
  iv. 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.
- 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, durante l'anno 2022 c'è stato il lavoro di scrittura dell'articolo sui risultati emersi: Cassano G, Nattino G, Belotti M, Cortellaro F, Cosentini R,

Ghilardi G I, Paganuzzi M, Paglia S, Rossi C, Solbiati M, Bertolini G, Brambilla A M, Fenice network. Prognostic value of respiratory parameters for COVID-19 patients in the emergency department: results from the EC-COVID study. Intern Emerg Med 2023; 18: 2075-2082.

- **Studio Tsunami**

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 obbiettivo: 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, durante l'anno 2022 c'è stato il lavoro di scrittura di articoli sui risultati emersi e nel 2023 sono stati pubblicati i seguenti lavori:

- Nattino G, Paganuzzi M M, Ghilardi G I, Costantino G, Rossi C, Cortellaro F, Cosentini R, Paglia S, Migliori M, Bertolini G. Strategies to convert hospital beds for COVID-19 patients to minimize emergency department overcrowding Health Serv Manage Res 2023; E-pub
- Andreella A, Mira A, Balafas S, Wit E C, Ruggeri F, Nattino G, Ghilardi G, Bertolini G. A predictive model for planning emergency events rescue during COVID-19 in Lombardy, Italy. Stat Methods Appt 2023; E-pub

- **Studio Lost**

Durante il 2020, il Laboratorio di Ricerca sugli 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 dipendenze, 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, e sulla salute mentale. Inoltre, grazie al progetto **Lost in Toscana**, è stato possibile proseguire il follow-up per alcuni dei soggetti intervistati, e valutare l'impatto a medio termine della pandemia sul consumo di cannabis (Amerio A et al, J Psychiatr Res 2023) e sull'intensità del fumo di sigarette tra i fumatori presenti nello studio (Carreras G et al, Ann Ist Super Sanita 2023). All'interno del progetto lombardo, invece, sono stati valutati i determinanti di una buona salute fisica e mentale (Gallus S et al, Aging Clin Exp Res 2023) e i fattori legati all'infezione da SARS-CoV-2. Inoltre, è stato analizzato 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 (Amerio A et al, J Affect Disord 2023), accesso alle cure e a selezionati servizi sanitari e domestici (Bertuccio P et al, Scand J Public Health 2023) nella popolazione anziana. Infine, tramite l'analisi dei database sanitari, è stato possibile valutare l'impatto del COVID-19 sulle ospedalizzazioni tra gli anziani lombardi con patologie croniche.

- **Studio COSMO-IT**

Lo studio ha analizzato l'associazione tra fumo di sigaretta, utilizzo di sigarette elettroniche e prodotti a tabacco riscaldato e esposizione al fumo passivo, e severità di COVID-19 tra più di 1800 pazienti ospedalizzati nel 2020-2021 per COVID-19 (Gallus S et al, J Epidemiol 2023). I risultati sull'associazione tra fumo di sigaretta sono stati interpretati anche nel contesto di una revisione sistematica e meta-analisi sull'argomento condotta dal Laboratorio di Ricerca sugli Stili di Vita (Gallus S et al, Eur Respir Rev 2023).

SELEZIONE PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE 2023

Lanfranconi S, Scola E, Meessen J, Pallini R, Bertani G A, Al-Shahi Salman R, Dejana E, Latini R, Treat_CCM Investigators

Safety and efficacy of propranolol for treatment of familial cerebral cavernous malformations (Treat_CCM): a randomised, open-label, blinded-endpoint, phase 2 pilot trial

Lancet Neurol 2023; 22(1):35-44

IF 48

Grandjean J, Desrosiers-Gregoire G, Anckaerts C, Angeles-Valdez D, Ayad F, Barrière A D, Blockx I, Bortel A, Broadwater M, Cardoso B M, Célestine M, Chavez-Negrete J E, Choi S, Christiaen E, Clavijo P, Colon-Perez L, Cramer S, Tolomeo D, Dempsey E, Diao Y, Doelemeyer A, Dopfel D, Dvorakova L, Falfan-Melgoza C, Fernandes F F, Moro F, Forloni G, Micotti E, Marsella G, et al

A consensus protocol for functional connectivity analysis in the rat brain

Nat Neurosci 2023; 26(4):673-681

IF 25

Annoni F, Su F, Peluso L, Lisi I, Caruso E, Pischiutta F, Gouvea Bogossian E, Garcia B, Njimi H, Vincent J-L, Gaspard N, Ferlini L, Creteur J, Zanier E R, Taccone F S

Hypertonic sodium lactate infusion reduces vasopressor requirements and biomarkers of brain and cardiac injury after experimental cardiac arrest

Crit Care 2023; 27(1):161

IF 15.1

Catalisano G, Ippolito M, Blanda A, Meessen J, Giarratano A, Todesco N, Bonato V, Restuccia F, Montomoli J, Fiore G, Grasselli G, Caironi P, Latini R, Cortegiani A

Effects of hyperoxemia in patients with sepsis. A post-hoc analysis of a multicentre randomized clinical trial

Pulmonology 2023; S2531-0437(23)00042-9

IF 11.7

Ruggeri L, Fumagalli F, Bernasconi F, Semeraro F, Meessen J, Blanda A, Migliari M, Magliocca A, Gordini G, Fumagalli R, Sechi G, Pesenti A, Skrifvars M B, Li Y, Latini R, Wik L, Ristagno G

Amplitude Spectrum Area of ventricular fibrillation to guide defibrillation: a small open-label, pseudo-randomized controlled multicenter trial

EBioMedicine 2023; 90:104544

IF 11.1

Diomede L, Zanier E R, Moro F, Vegliante G, Colombo L, Russo L, Cagnotto A, Natale C, Xodo F M, De Luigi A, Mosconi M, Beeg M, Catania M, Rossi G, Tagliavini F, Di Fede G, Salmona M

Aβ1-6A2V(D) peptide, effective on Aβ aggregation, inhibits tau misfolding and protects the brain after traumatic brain injury

Mol Psychiatry 2023; 28(6):2433-2444

IF 11

Girerd N, Levy D, Duarte K, Ferreira J P, Ballantyne C, Collier T, Pizard A, Bjorkman J, Butler J, Clark A, Cleland J G, Delles C, Diez J, Gonzalez A, Hazebroek M, Ho J , Huby A-C, Hwang S-J, Latini R, Mariottoni B, Mebazaa A, Pellicori P, Sattar N, Sever P, Staessen J A, Verdonschot J , Heymans S, Rossignol P, Zannad F

Protein biomarkers of new-onset heart failure: Insights from the Heart Omics and Ageing cohort, the Atherosclerosis Risk in Communities study, and the Framingham Heart Study

Circ Heart Fail 2023; 16(5):e009694

IF 9.7

Magliocca A, Perego C, Motta F, Merigo G, Micotti E, Olivari D, Fumagalli F, Lucchetti J, Gobbi M, Mandelli A, Furlan R, Skrifvars M B, Latini R, Bellani G, Ichinose F, Ristagno G

Indoleamine 2,3-dioxygenase deletion to modulate kynurenine pathway and to prevent brain injury after cardiac arrest in mice

Anesthesiology 2023; 139(5):628-645

IF 8.8

Di Sapia R, Rizzi M, Moro F, Lisi I, Caccamo A, Ravizza T, Vezzani A, Zanier ER

ECoG spiking activity and signal dimension are early predictive measures of epileptogenesis in a translational mouse model of traumatic brain injury

Neurobiol Dis 2023; 185:106251

IF 6.1

Perico N, Remuzzi G, Griffin M D, Cockwell P, Maxwell A P, Casiraghi F, Rubis N, Peracchi T, Villa A, Todeschini M, Carrara F, Magee B A, Ruggenenti P, Rota S, Cappelletti L, McInerney V, Griffin T P, Islam M N, Introna M, Pedrini O, Golay J, Finnerty A A, Smythe J, Fibbe W E, Elliman S J, O'Brien T, NEPHSTROM Trial Consortium

Safety and preliminary efficacy of mesenchymal stromal cell (ORBCEL-M Cell) therapy in diabetic kidney disease: a randomized clinical trial (NEPHSTROM)

J Am Soc Nephrol 2023; 34:1733-1751

IF 13.6

Podestà M A, Trillini M, Portalupi V, Gennarini A, Tomatis F, Villa A, Perna A, Rubis N, Remuzzi G, Ruggenenti P

Ofatumumab in rituximab-resistant and rituximab-intolerant patients with primary membranous nephropathy

Am J Kidney Dis 2023; E-pub

IF 13.2

Trillini M, Caroli A, Perico N, Remuzzi A, Brambilla P, Villa G, Perna A, Peracchi T, Rubis N, Martinetti D, Caruso M R, Leone V F, Cugini D, Carrara F, Remuzzi G, Ruggenenti P, TOOL Study Group

Effects of octreotide–long-acting release added-on tolvaptan in patients with autosomal dominant polycystic kidney disease: pilot, randomized, placebo-controlled, cross-over trial

Clin J Am Soc Nephrol 2023; 18:223-233

IF 9.8

Caroli A, Villa G, Brambilla P, Trillini M, Sharma K, Sironi S, Remuzzi G, Perico N, Remuzzi A

Diffusion magnetic resonance imaging for kidney cyst volume quantification and non-cystic tissue characterisation in ADPKD

Eur Radiol 2023; 33:6009-6019

IF 5.9

Lavecchia AM, Mantzouratou P, Cerullo D, Locatelli M, Conti S, Tironi M, Sangalli F, Corna D, Zoja C, Remuzzi G, Xinaris C

Thyroid hormone treatment counteracts cellular phenotypical remodeling in diabetic organs

iScience 2023; 26:107826

IF 5.8

Casiraghi F, Todeschini M, Podestà M A, Mister M, Ruggiero B, Trillini M, Carrara C, Diadei O, Villa A, Benigni A, Remuzzi G

Immunophenotypic alterations in adult patients with steroid-dependent and frequently relapsing nephrotic syndrome

Int J Mol Sci 2023; 24:7687

IF 5.6

Locatelli M, Rottoli D, Mahmoud R M A, Abbate M, Corna D, Cerullo D, Tomasoni S, Remuzzi G, Zoja C, Benigni A, Macconi D

Endothelial glycocalyx of peritubular capillaries in experimental diabetic nephropathy: a target of ACE inhibitor-induced kidney microvascular protection

Int J Mol Sci 2023; 24:16543

IF 5.6

Zanchi C, Locatelli M, Corna D, Cerullo D, Fishilevich E, Desai D, Rottoli D, Donadelli R, Noris M, Zoja C, Remuzzi G, Benigni A

Liver Factor B silencing to cure C3 glomerulopathy: evidence from a mouse model of complement dysregulation

Mol Immunol 2023; 161:25-32

IF 3.6

Cabibbo G, Daniele B, Borzio M, Casadei-Gardini A, Cillo U, Colli A, Conforti M, Dadduzio V, Dionisi F, Farinati F, Gardini I, Giannini EG, Golfieri R, Guido M, Mega A, Cinquini M, Piscaglia F, Rimassa L, Romanini L, Pecorelli A, Sacco R, Scorsetti M, Viganò L, Vitale A, Trevisani F

Multidisciplinary treatment of hepatocellular carcinoma in 2023: Italian practice Treatment Guidelines of the Italian Association for the Study of the Liver (AISF), Italian Association of Medical Oncology (AIOM), Italian Association of Hepato-Bilio-Pancreatic Surgery (AICEP), Italian Association of Hospital Gastroenterologists (AIGO), Italian Association of Radiology and Clinical Oncology (AIRO), Italian Society of Pathological Anatomy and Diagnostic Cytology (SIAPeC-IAP), Italian Society of Surgery (SIC), Italian Society of Gastroenterology (SIGE), Italian Society of Medical and Interventional Radiology (SIRM), Italian Organ Transplant Society (SITO), and Association of Patients with Hepatitis and Liver Disease (EpaC) - Part II - Non-surgical treatments

Dig Liver Dis. 2023; 4:S1590-8658(23)01020-4. Epub ahead of print

IF 5.165

Queirolo P, Cinquini M, Argenziano G, Bassetto F, Bossi P, Boutros A, Clemente C, de Giorgi V, Del Vecchio M, Patuzzo R, Peris K, Quaglino P, Reali A, Zalaudek I, Spagnolo F

Guidelines for the diagnosis and treatment of basal cell carcinoma: a GRADE approach for evidence evaluation and recommendations by the Italian Association of Medical Oncology

ESMO Open 2023; 8(6):102037

IF 5.329

Bogani G, Cinquini M, Signorelli D, Pizzutilo EG, Romanò R, Bersanelli M, Raggi D, Alfieri S, Buti S, Bertolini F, Bonomo P, Marandino L, Rizzo M, Monteforte M, Aiello M, Tralongo AC, Torri V, Di Donato V, Giannatempo P

A systematic review and meta-analysis on the optimal treatment duration of checkpoint inhibitoRS in solid tumors: The OTHERS study

Crit Rev Oncol Hematol. 2023; 187:104016

IF 6.625

Valentini E, Di Martile M, Brignone M, Di Caprio M, Manni I, Chiappa M, Sergio I, Chiacchiarini M, Bazzichetto C, Conciatori F, D'Aguanno S, D'Angelo C, Ragno R, Russillo M, Colotti G, Marchesi F, Bellone M L, Dal Piaz F, Felli M P, Damia G, Del Bufalo D

Bcl-2 family inhibitors sensitize human cancer models to target therapy

Cell Death Dis 2023; 14:441

IF 9

Russo M, Panini N, Fabbrizio P, Formenti L, Becchetti R, Matteo C, Meroni M, Nastasi C, Cappelleri A, Frapolli R, Nardo G, Scanziani E, Ponzetta A, Bani M R, Ghilardi C, Giavazzi R

Chemotherapy-induced neutropenia elicits metastasis formation in mice by promoting proliferation of disseminated tumor cells

Oncoimmunology 2023; 12:2239035

IF 7.2

Sancho-Albero M, Facchetti G, Panini N, Meroni M, Bello E, Rimoldi I, Zucchetti M, Frapolli R, De Cola L

Enhancing Pt(IV) complexes' anticancer activity upon encapsulation in stimuli-responsive nanocages

Adv Healthc Mater 2023; 12:2202932

IF 10

Ganzinelli M, Guffanti F, Ianza A, Sobhani N, Crovella S, Zanconati F, Bottin C, Confalonieri M, Fumagalli S, Guglielmi A, Generali D, Damia G

Epithelioid mesothelioma patients with very long survival display defects in DNA repair

Cancers (Basel) 2023; 15:4309

IF 5.2

GustÃ M F, Edel M J, Salazar V, Alvarez-Palomo A B, Juan M, Broggini M, Damia G, Bigini P, Corbelli A, Fiordaliso F, Barbul A, Korenstein R, Bastus N G, Puntes V

Exploiting endocytosis for transfection of mRNA for cytoplasmatic delivery using cationic gold nanoparticles

Front Immunol 2023; 14:1128582

IF 7.3

Resovi A, Persichitti P, Brunelli L, Minoli L, Borsotti P, Garattini G, Tironi M, Dugnani E, Redegalli M, De Simone G, Pastorelli R, Bani M R, Piemonti L, Mosher D F, Giavazzi R, Taraboletti G, Belotti D

Fibronectin fragments generated by pancreatic trypsin act as endogenous inhibitors of pancreatic tumor growth

J Exp Clin Cancer Res 2023; 42:201

IF 11.3

Conter V, Valsecchi M G, Cario G, Zimmermann M, Attarbaschi A, Stary J, Niggli F, Dalla Pozza L, Elitzur S, Silvestri D, Locatelli F, Moricke A, Engstler G, Smisek P, Bodmer N, Barbaric D, Izraeli S, Rizzari C, Boos J, Buldini B, Zucchetti M, Von Stackelberg A, Matteo C, Lehrnbecher T, Lanvers-Kaminsky C, Cazzaniga G, Gruhn B, Biondi A, Schrappe M

Four additional doses of PEG-L-asparaginase during the consolidation phase in the AIEOP-BFM ALL 2009 protocol do not improve outcome and increase toxicity in high-tisk ALL: Results of a randomized study

J Clin Oncol 2023; E-pub

IF 45.3

Longhi E, Carminati L, Carlessi E, Belotti D, Taraboletti G

Thrombospondin-1 in drug activity and tumor response to therapies

Semin Cell Dev Biol 2023; E-pub

IF 7.3

Carminati L, Carlessi E, Longhi E, Taraboletti G

Controlled extracellular proteolysis of thrombospondins

Matrix Biol 2023; 119:82-100

IF 6.9

De Simone G, Soldani C, Morabito A, Franceschini B, Ferlan F, Costa G, Pastorelli R, Donadon M, Brunelli L

Implication of metabolism in the polarization of tumor-associated-macrophages: the mass spectrometry-based point of view

Front Immunol 2023; 14:1193235

IF 7.3

Toropov AA, Di Nicola MR, Toropova AP, Roncaglioni A, Dorne JLCM, Benfenati E

Quasi-SMILES: Self-consistent models for toxicity of organic chemicals to tadpoles.

Chemosphere 2023; 312(Pt 1):137224

IF 8.943

Danieli A, Colombo E, Raitano G, Lombardo A, Roncaglioni A, Manganaro A, Sommovigo A, Carnesecchi E, Dorne J-LCM, Benfenati E.

The VEGA Tool to Check the Applicability Domain Gives Greater Confidence in the Prediction of In Silico Models

International Journal of Molecular Sciences 2023; 24(12):9894

IF 6.208

Kalian AD, Benfenati E, Osborne OJ, Gott D, Potter C, Dorne J-LCM, Guo M, Hogstrand C

Exploring Dimensionality Reduction Techniques for Deep Learning Driven QSAR Models of Mutagenicity

Toxics 2023; 11(7):572

IF 4.472

Foresta A, Ojeda-Fernandez L, Macaluso G, Roncaglioni MC, Tettamanti M, Fortino I, Leoni O, Genovese S, Baviera M

Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitors, Glucagon-like Peptide-1 Receptor Agonists, and Sodium-Glucose Cotransporter-2 Inhibitors and COVID-19 Outcomes

Clin Ther. 2023; 45(4):e115-e126

IF 3.2

Ojeda-Fernández L, Baviera M, Foresta A, Tettamanti M, Zambon A, Macaluso G, Schena S, Leoni O, Fortino I, Roncaglioni MC, Parati G

Impact of first and second/third wave of COVID-19 pandemic on post-acute cardiovascular outcomes in Lombardy

Front Cardiovasc Med. 2023; 10:1244002

IF 3.6

Baldassarre D, Iacoviello L, Baetta R, Roncaglioni MC, Condorelli G, Remuzzi G, Gensini G, Frati L, Ricciardi W, Conaldi PG, Uccelli A, Blandini F, Bosari S, Scambia G, Fini M, Di Malta A, Amato M, Veglia F, Bonomi A, Klersy C, Colazzo F, Pengo M, Gorini F, Auteri L, Ferrante G, Baviera M, Ambrosio G, Catapano A, Gialluisi A, Malavazos AE, Castelvecchio S, Corsi-Romanelli MM, Cardani R, La Rovere MT, Agnese V, Pane B, Prati D, Spinardi L, Liuzzo G, Arbustini E, Volterrani M, Visconti M, Werba JP, Genovese S, Bilo G, Invitti C, Di Blasio A, Lombardi C, Faini A, Rosa D, Ojeda-Fernández L, Foresta A, De Curtis A, Di Castelnuovo A, Scalvini S, Pierobon A, Gorini A, Valenti L, Luzi L, Racca A, Bandi M, Tremoli E, Menicanti L, Parati G, Pompilio G; CV-PREVITAL Study Group

Rationale and design of the CV-PREVITAL study: an Italian multiple cohort randomised controlled trial investigating innovative digital strategies in primary cardiovascular prevention.

BMJ Open. 2023; 13(7):e072040

IF 2.9

Di Castelnuovo A, Bonaccio M, Costanzo S, De Curtis A, Persichillo M, Panzera T, Bracone F, Baldassarre D, Roncaglioni MC, Baviera M, Cerletti C, Donati MB, de Gaetano G, Iacoviello L; Moli-sani Study Investigators

The Moli-sani risk score, a new algorithm for measuring the global impact of modifiable cardiovascular risk factors

Int J Cardiol. 2023; 389:131228

IF 3.5

Foresta A, Succurro E, Baviera M, Macaluso G, Ojeda-Fernández L, Carla Roncaglioni M, Fortino I, Nobili A, Sesti G

Prescribing trends of glucose-lowering drugs in older adults from 2010 to 2021: A population-based study of Northern Italy

Diabetes Res Clin Pract. 2023; 202:110742

IF 5.1

Picchetti P, Volpi S, Sancho-Albero M, Rossetti M, Dore MD, Trinh T, Biedermann F, Neri M, Bertucci A, Porchetta A, Corradini R, Sleiman H, De Cola L

Supramolecular Nucleic Acid-Based Organosilica Nanoparticles Responsive to Physical and Biological Inputs

J Am Chem Soc. 2023; 145(42):22903-22912

IF 15

Picchetti P, Volpi S, Rossetti M, Dore MD, Trinh T, Biedermann F, Neri M, Bertucci A, Porchetta A, Corradini R, Sleiman H, De Cola L

Responsive Nucleic Acid-Based Organosilica Nanoparticles

J Am Chem Soc. 2023; 145(42):22896-22902

IF 15

Bernardotto S, Frasson I, Faravelli S, Morelli A, Schiavon E, Moscatiello GY, Violatto MB, Pinnola A, Canciani A, Mattarei A, Rossi G, Brini M, Pasetto L, Bonetto V, Bigini P, Forneris F, Richter SN, Morpurgo M

Efficient SARS-CoV-2 infection antagonization by rhACE2 ectodomain multimerized onto the Avidin-Nucleic-Acid-NanoASsembly

Biomaterials. 2023; 303:122394

IF 14

David R, Rybina A, Burel JM, Heriche JK, Audergon P, Boiten JW, Coppens F, Crockett S, Exter K, Fahrner S, Fratelli M, Goble C, Gormanns P, Grantner T, Grüning B, Gurwitz KT, Hancock JM, Harmse H, Holub P, Juty N, Karnbach G, Karoune E, Keppler A, Klemeier J, Lancelotti C, Legras JL, Lister AL, Longo DL, Ludwig R, Madon B, Massimi M, Matser V, Matteoni R, Mayrhofer MT, Ohmann C, Panagiotopoulou M, Parkinson H, Perseil I, Pfander C, Pieruschka R, Raess M, Rauber A, Richard AS, Romano P, Rosato A, Sánchez-Pla A, Sansone SA, Sarkans U, Serrano-Solano B, Tang J, Tanoli Z, Tedds J, Wagener H, Weise M, Westerhoff HV, Wittner R, Ewbank J, Blomberg N, Gribbon P

“Be sustainable": EOSC-Life recommendations for implementation of FAIR principles in life science data handling

EMBO J. 2023; 42(23):e115008

IF 11.4

Guarrera L, Kurosaki M, Garattini SK, Gianni' M, Fasola G, Rossit L, Prisciandaro M, Di Bartolomeo M, Bolis M, Rizzo P, Nastasi C, Foglia M, Zanetti A, Paroni G, Terao M, Garattini E

Anti-tumor activity of all-trans retinoic acid in gastric-cancer: gene-networks and molecular mechanisms

J Exp Clin Cancer Res. 2023; 42(1):298

IF 11.3

Indrigo M, Morella I, Orellana D, d'Isa R, Papale A, Parra R, Gurgone A, Lecca D, Cavaccini A, Tigaret CM, Cagnotto A, Jones K, Brooks S, Ratto GM, Allen ND, Lelos MJ, Middei S, Giustetto M, Carta AR, Tonini R, Salmona M, Hall J, Thomas K, Brambilla R, Fasano S

Nuclear ERK1/2 signaling potentiation enhances neuroprotection and cognition via Importinα1/KPNA2

EMBO Mol Med. 2023; 15(11):e15984

IF 11.1

Diomede L, Zanier ER, Moro F, Vegliante G, Colombo L, Russo L, Cagnotto A, Natale C, Xodo FM, De Luigi A, Mosconi M, Beeg M, Catania M, Rossi G, Tagliavini F, Di Fede G, Salmona M

Aβ1-6A2V(D) peptide, effective on Aβ aggregation, inhibits tau misfolding and protects the brain after traumatic brain injury

Mol Psychiatry. 2023; 28(6):2433-2444

IF 11

Fosse V, Oldoni E, Bietrix F, Budillon A, Daskalopoulos EP, Fratelli M, Gerlach B, Groenen PMA, Hölter SM, Menon JML, Mobasheri A, Osborne N, Ritskes-Hoitinga M, Ryll B, Schmitt E, Ussi A, Andreu AL, McCormack E; PERMIT group

Recommendations for robust and reproducible preclinical research in personalised medicine

BMC Med. 2023; 21(1):14

IF 9.3

Magliocca A, Perego C, Motta F, Merigo G, Micotti E, Olivari D, Fumagalli F, Lucchetti J, Gobbi M, Mandelli A, Furlan R, Skrifvars MB, Latini R, Bellani G, Ichinose F, Ristagno G

Indoleamine 2,3-Dioxygenase Deletion to Modulate Kynurenine Pathway and to Prevent Brain Injury after Cardiac Arrest in Mice

Anesthesiology. 2023; 139(5):628-645

IF 8.8

Gustà MF, Edel MJ, Salazar VA, Alvarez-Palomo B, Juan M, Broggini M, Damia G, Bigini P, Corbelli A, Fiordaliso F, Barbul A, Korenstein R, Bastús NG, Puntes V

Exploiting endocytosis for transfection of mRNA for cytoplasmatic delivery using cationic gold nanoparticles

Front Immunol. 2023; 14:1128582

IF 8.787

Conz A, Salmona M, Diomede L

Effect of Non-Nutritive Sweeteners on the Gut Microbiota

Nutrients. 2023; 15(8):1869

IF 6.706

Sancho-Albero M, Rosso G, De Cola L, Cauda V

Cargo-loaded lipid-shielded breakable organosilica nanocages for enhanced drug delivery

Nanoscale. 2023; 15(35):14628-14640

IF 6.7

Fernandez Alarcon J, Soliman M, Lüdtke TU, Clemente E, Dobricic M, Violatto MB, Corbelli A, Fiordaliso F, Cordiglieri C, Talamini L, Sitia G, Moya S, Bigini P, Monopoli MP

Long-term retention of gold nanoparticles in the liver is not affected by their physicochemical characteristics

Nanoscale. 2023; 15(19):8740-8753

IF 6.7

Caroli A, Villa G, Brambilla P, Trillini M, Sharma K, Sironi S, Remuzzi G, Perico N, Remuzzi A

Diffusion magnetic resonance imaging for kidney cyst volume quantification and non-cystic tissue characterisation in ADPKD

Eur Radiol 2023; 33:6009-6019

IF 5.9

Villa G, Daina E, Brambilla P, Gamba S, Leone V F, Carrara C, Rizzo P, Noris M, Remuzzi G, Remuzzi A, Caroli A

Functional magnetic resonance imaging to monitor disease progression: a prospective study in patients with primary membranoproliferative glomerulonephritis

Nephron 2023; E-pub

IF 2.5

Caroli A, Capelli S, Napolitano A, Cabrini G P, Arrigoni A, Pezzetti G, Previtali M, Longhi L G, Zangari R, Lorini F L, Sessa M, Remuzzi A, Gerevini S

Brain diffusion alterations in patients with COVID-19 pathology and neurological manifestations

Neuroimage Clin 2023; 37:103338

IF 4.2

Capelli S, Caroli A, Barletta A, Arrigoni A, Napolitano A, Pezzetti G, Longhi L G, Zangari R, Lorini F L, Sessa M, Remuzzi A, Gerevini S

MRI evidence of olfactory system alterations in patients with COVID-19 and neurological symptoms

J Neurol 2023; E-pub

IF 6

Soliveri L, Bozzetto M, Brambilla P, Caroli A, Remuzzi A

Hemodynamics in AVF over time: A protective role of vascular remodeling toward flow stabilization

Int J Artif Organs 2023; 46:47-554

IF 1.7

Bozzetto M, Remuzzi A, Valen-Sendstad K

Flow-induced high frequency vascular wall vibrations in an arteriovenous fistula: a specific stimulus for stenosis development?

Phys Eng Sci Med 2023; E-pub

IF 4.4

Trillini M, Caroli A, Perico N, Remuzzi A, Brambilla P, Villa G, Perna A, Peracchi T, Rubis N, Martinetti D, Caruso M R, Leone V F, Cugini D, Carrara F, Remuzzi G, Ruggenenti P, TOOL Study Group

Effects of octreotide–long-acting release added-on tolvaptan in patients with autosomal dominant polycystic kidney disease: pilot, randomized, placebo-controlled, cross-over trial

Clin J Am Soc Nephrol 2023; 18:223-233

IF 9.8

Picchetti P, Volpi S, Sancho-Albero M, Rossetti M, Dore MD, Trinh T, Biedermann F, Neri M, Bertucci A, Porchetta A, Corradini R, Sleiman H, De Cola L

Supramolecular Nucleic Acid-Based Organosilica Nanoparticles Responsive to Physical and Biological Inputs

J Am Chem Soc. 2023; 145(42):22903-22912

IF 15

Picchetti P, Volpi S, Rossetti M, Dore MD, Trinh T, Biedermann F, Neri M, Bertucci A, Porchetta A, Corradini R, Sleiman H, De Cola L.

Responsive Nucleic Acid-Based Organosilica Nanoparticles.

J Am Chem Soc. 2023; 145(42):22896-22902.

IF 15

Bernardotto S, Frasson I, Faravelli S, Morelli A, Schiavon E, Moscatiello GY, Violatto MB, Pinnola A, Canciani A, Mattarei A, Rossi G, Brini M, Pasetto L, Bonetto V, Bigini P, Forneris F, Richter SN, Morpurgo M

Efficient SARS-CoV-2 infection antagonization by rhACE2 ectodomain multimerized onto the Avidin-Nucleic-Acid-NanoASsembly

Biomaterials. 2023; 122394

IF 14

David R, Rybina A, Burel JM, Heriche JK, Audergon P, Boiten JW, Coppens F, Crockett S, Exter K, Fahrner S, Fratelli M, Goble C, Gormanns P, Grantner T, Grüning B, Gurwitz KT, Hancock JM, Harmse H, Holub P, Juty N, Karnbach G, Karoune E, Keppler A, Klemeier J, Lancelotti C, Legras JL, Lister AL, Longo DL, Ludwig R, Madon B, Massimi M, Matser V, Matteoni R, Mayrhofer MT, Ohmann C, Panagiotopoulou M, Parkinson H, Perseil I, Pfander C, Pieruschka R, Raess M, Rauber A, Richard AS, Romano P, Rosato A, Sánchez-Pla A, Sansone SA, Sarkans U, Serrano-Solano B, Tang J, Tanoli Z, Tedds J, Wagener H, Weise M, Westerhoff HV, Wittner R, Ewbank J, Blomberg N, Gribbon P

"Be sustainable": EOSC-Life recommendations for implementation of FAIR principles in life science data handling

EMBO J. 2023; 42(23):e115008

IF 11.4

Guarrera L, Kurosaki M, Garattini SK, Gianni' M, Fasola G, Rossit L, Prisciandaro M, Di Bartolomeo M, Bolis M, Rizzo P, Nastasi C, Foglia M, Zanetti A, Paroni G, Terao M, Garattini E

Anti-tumor activity of all-trans retinoic acid in gastric-cancer: gene-networks and molecular mechanisms

J Exp Clin Cancer Res. 2023; 42(1):298

IF 11.3

Diomede L, Zanier ER, Moro F, Vegliante G, Colombo L, Russo L, Cagnotto A, Natale C, Xodo FM, De Luigi A, Mosconi M, Beeg M, Catania M, Rossi G, Tagliavini F, Di Fede G, Salmona M

Aβ1-6A2V(D) peptide, effective on Aβ aggregation, inhibits tau misfolding and protects the brain after traumatic brain injury

Mol Psychiatry. 2023; 28(6):2433-2444

IF 11

Fosse V, Oldoni E, Bietrix F, Budillon A, Daskalopoulos EP, Fratelli M, Gerlach B, Groenen PMA, Hölter SM, Menon JML, Mobasheri A, Osborne N, Ritskes-Hoitinga M, Ryll B, Schmitt E, Ussi A, Andreu AL, McCormack E; PERMIT group

Recommendations for robust and reproducible preclinical research in personalised medicine

BMC Med. 2023; 21(1):14

IF 9.3

Magliocca A, Perego C, Motta F, Merigo G, Micotti E, Olivari D, Fumagalli F, Lucchetti J, Gobbi M, Mandelli A, Furlan R, Skrifvars MB, Latini R, Bellani G, Ichinose F, Ristagno G.

Indoleamine 2,3-Dioxygenase Deletion to Modulate Kynurenine Pathway and to Prevent Brain Injury after Cardiac Arrest in Mice

Anesthesiology 2023; 139(5):628-645

IF 8.8

Gustà MF, Edel MJ, Salazar VA, Alvarez-Palomo B, Juan M, Broggini M, Damia G, Bigini P, Corbelli A, Fiordaliso F, Barbul A, Korenstein R, Bastús NG, Puntes V

Exploiting endocytosis for transfection of mRNA for cytoplasmatic delivery using cationic gold nanoparticles

Front Immunol. 2023; 14:1128582

IF 8.787

Broggini L, Barzago MM, Speranzini V, Schulte T, Sonzini F, Giono M, Romeo M, Milani P, Caminito S, Mazzini G, Rognoni P, Merlini G, Pappone C, Anastasia L, Nuvolone M, Palladini G, Diomede L, Ricagno

Nanobodies counteract the toxicity of an amyloidogenic light chain by stabilizing a partially open dimeric conformation

J Mol Biol. 2023; 435(24):168320

IF 6.1

Sancho-Albero M, Rosso G, De Cola L, Cauda V

Cargo-loaded lipid-shielded breakable organosilica nanocages for enhanced drug delivery

Nanoscale. 2023; 15(35):14628-14640

IF 6.7

Fernandez Alarcon J, Soliman M, Lüdtke TU, Clemente E, Dobricic M, Violatto MB, Corbelli A, Fiordaliso F, Cordiglieri C, Talamini L, Sitia G, Moya S, Bigini P, Monopoli MP

Long-term retention of gold nanoparticles in the liver is not affected by their physicochemical characteristics

Nanoscale. 2023; 15(19):8740-8753

IF 6.7

Beeg M, Baroni S, Piotti A, Porta A, De Luigi A, Cagnotto A, Gobbi M, Diomede L, Salmona M

A Comprehensive Technology Platform for the Rapid Discovery of Peptide Inhibitors against SARS-CoV-2 Pseudovirus Infection

Int J Mol Sci. 2023; 24(15):12146

IF 6.2

Valsecchi C, Gualtierotti R, Arcudi S, Ciavarella S, Siboni S M, Schiavone L, Beeg M, Gobbi M, Peyvandi F

Anti-emicizumab antibodies do not cross-react with mim8 in vitro

Res Pract Thromb Haemost. 2023; 7(6):102161

IF 4.6

Re F, Giorgetti S, Biondi B, Scapin S, Mantegazza F, Cassina V, Sesana S M, Rizzi L, Eberini I, Palazzolo L, Beeg M, Gobbi M, Sardina M, Masserini M

Amyposomes, a nanotechnological chaperone with anti-amyloidogenic activity

Ann Med. 2023; 55(1):220565

IF 4.4

Forloni G

Alpha Synuclein: Neurodegeneration and inflammation

Int J Mol Sci. 2023; 24(6):5914

IF 5.6

Priori E C, Musi C A, Giani A, Colnaghi L, Milic I, Devitt A, Borsello T, Repici M

JNK activation correlates with cognitive impairment and alteration of the post-synaptic element in the 5xFAD AD mouse model

Cells 2023; 12(6):904

IF 6

Imbimbo BP, Balducci C, Ippati S, Watling M

Initial failures of anti-tau antibodies in Alzheimer's disease are reminiscent of the amyloid-β story

Neural Regen Res 2023; 18:117-118

IF 6.1

La Vitola P, Artioli L, Cerovic M, Poletto C, Dacomo L, Leva S, Balducci C, Forloni G

Repositioning doxycycline for treating synucleinopathies: Evidence from a pre-clinical mouse model

Parkinsonism Relat Disord 2023; 106:105229

IF 4.1

Masone A, Zucchelli C, Caruso E, Lavigna G, Erana H, Giachin G, Tapella L, Comerio L, Restelli E, Raimondi I, Elezgarai S R, De Leo F, Quilici G, Taiarol L, Oldrati M, Lorenzo N L, Garcia-Martinez S, Cagnotto A, Lucchetti J, Gobbi M, Vanni I, Nonno R, Di Bari M A, Tully M D, Cecatiello V, Ciossani G, Pasqualato S, Van Anken E, Salmona M, Castilla J, Requena JR, Banfi S, Musco G, Chiesa R

A tetracationic porphyrin with dual anti-prion activity

iScience 2023; 26(9):107480

IF 5.8

Pischiutta F, Cavaleiro H, Caruso E, Tribuzio F, Di Marzo N, Moro F, Kobeissy F, Wang K K, Salgado A J, Zanier ER

A novel organotypic cortical slice culture model for traumatic brain injury: molecular changes induced by injury and mesenchymal stromal cell secretome treatment

Front Cell Neurosci 2023; 17: 1217987

IF 5.3

De Paola M, Pischiutta F, Comolli D, Mariani A, Kelk J, Lisi I, Cerovic M, Fumagalli S, Forloni G, Zanier ER

Neural cortical organoids from self-assembling human iPSC as a model to investigate neurotoxicity in brain ischemia

J Cereb Blood Flow Metab 2023; 43(5):680-693

IF 6.3

Valente A, Mariani J, Seminara S, Tettamanti M, Pignataro G, Perego C, Sironi L, Pedata F, Amantea D, Bacigaluppi M, Vinciguerra A, Diamanti S, Viganò M, Santangelo F, Zoia C P, Rogriguez-Menendez V, Castiglioni L, Rzemieniec J, Dettori I, Bulli I, Coppi E, Di Santo C, Cuomo O, Gullotta G S, Butti E, Bagetta G, Martino G, De Simoni M G, Ferrarese C, Fumagalli S, Beretta S, TRICS Study Group

Harmonization of sensorimotor deficit assessment in a registered multicentre pre-clinical randomized controlled trial using two models of ischemic stroke

J Cereb Blood Flow Metab 2023; 43(7):1077-1088

IF 6.3

Cerovic M, Di Nunzio M, Craparotta I, Vezzani A

An in vitro model of drug-resistant seizures for selecting clinically effective antiseizure medications in Febrile Infection-Related Epilepsy Syndrome

Front Neurol 2023; 14:1129138

IF 3.4

Hanin A, Cespedes J, Huttner A, Strelnikov D, Gopaul M, DiStasio M, Vezzani A, Hirsch L J, Aronica L

Neuropathology of New-Onset Refractory Status Epileticus (NORSE)

J Neurol 2023; 270(8):3688-3702

IF 6

Vezzani A, Di Sapia R, Kebede V, Balosso S, Ravizza A

Neuroimmunology of status epilepticus

Epilepsy Behav 2023; 140:109095

IF 3.337

Di Sapia R, Rizzi M, Moro F, Lisi I, Caccamo A, Ravizza T, Vezzani A, Zanier ER

ECoG spiking activity and signal dimension are early predictive measures of epileptogenesis in a translational mouse model of traumatic brain injury

Neurobiol Dis 2023; 185:106251

IF 6.1

Margotta C, Fabbrizio P, Ceccanti M, Cambieri C, Ruffolo G, D'Agostino J, Trolese M C, Cifelli P, Alfano V, Laurini C, Scaricamazza S, Ferri A, Sorarù G, Palma E, Inghilleri M, Bendotti C, Nardo G

Immune-mediated myogenesis and acetylcholine receptor clustering promote a slow disease progression in ALS mouse models

Inflamm Regen 2023; 43(1):19

IF 8.1

Fabbrizio P, Margotta C, D'Agostino J, Suanno G, Quetti L, Bendotti C, Nardo G

Intramuscular IL-10 administration enhances the activity of myogenic precursor cells and improves motor function in ALS mouse model

Cells 2023; 12(7):1016

IF 6

Bondi D, Bevere M, Piccirillo R, Sorci G, Di Felice V, Re Cecconi A D, D'Amico D, Pietrangelo T, Fulle S

Integrated procedures for accelerating, deepening, and leading genetic inquiry: A first application on human muscle secretome

Mol Genet Metab 2023; 140(3):107705

IF 3.8

Grandjean J, Desrosiers-Gregoire G, Anckaerts C, Angeles-Valdez D, Ayad F, Barrière A D, Blockx I, Bortel A, Broadwater M, Cardoso B M, Célestine M, Chavez-Negrete J E, Choi S, Christiaen E, Clavijo P, Colon-Perez L, Cramer S, Tolomeo D, Dempsey E, Diao Y, Doelemeyer A, Dopfel D, Dvorakova L, Falfan-Melgoza C, Fernandes F F, Moro F, Forloni G, Micotti E, Marsella G, et al

A consensus protocol for functional connectivity analysis in the rat brain

Nat Neurosci 2023; 26:673-681

IF 25

Hanin A, Cespedes J, Pulluru Y, Gopaul M, Aronica E, Decampo D, Helbig I, Howe C L, Huttner A, Koh S, Navarro V, Taraschenko O, Vezzani A, Wilson M R, Xian J, Gaspard N, Hirsch LJ

Review and standard operating procedures for collection of biospecimens and analysis of biomarkers in new onset refractory status epilepticus

Epilepsia 2023; 64:1444-1457

IF 5.6

Li L M, Heslegrave A, Soreq E, Nattino G, Rosnati M, Garbero E, Zimmerman K A, Graham N S N, Moro F, Novelli D, Gradisek P, Magnoni S, Glocker B, Zetterberg H, Bertolini G, Sharp D

Investigating the characteristics and correlates of systemic inflammation after traumatic brain injury: the TBI-BraINFLAMM study

BMJ Open 2023; 13:e069594

IF 2.9

Zoerle T, Birg T, Carbonara M, Smielewski P, Placek M M, Zanier E R, Akerlund C A I, Ortolano F, Stocchetti N, CENTER-TBI High Resolution ICU Sub-Study Participants and Investigators

Accuracy of manual intracranial pressure recording compared to a computerized high-resolution system: a CENTER-TBI analysis

Neurocrit Care 2023; 38(3):781-790

IF 3.5

Bernini A, Magnoni S, Miroz J P, Corredor Jerez R, Bertolini G, Zetterberg H, Graham N, Sharp D, Oddo M, Dunet V

Cerebral metabolic dysfunction at the acute phase of traumatic brain injury correlates with long-term tissue loss

J Neurotrauma 2023; 40(5-6):472-481

IF 4.2

Zanier E R, Pischiutta F, Rulli E, Vargiolu A, Elli F, Gritti P, Gaipa G, Belotti Daniela, Basso G, Zoerle T, Stocchetti N, Citerio G, MATRIx study group

MesenchymAl stromal cells for Traumatic bRain Injury (MATRIx): a study protocol for a multicenter, double-blind, randomised, placebo-controlled phase II trial

Intensive Care Med Exp 2023; 11(1):56

IF 3.5

Lanfranconi S, Scola E, Meessen J, Pallini R, Bertani G A, Al-Shahi Salman R, Dejana E, Latini R, Treat_CCM Investigators

Safety and efficacy of propranolol for treatment of familial cerebral cavernous malformations (Treat_CCM): a randomised, open-label, blinded-endpoint, phase 2 pilot trial

Lancet Neurol 2023; 22(1):35-44

IF 48

Incerti I, Fusco M, Contarino V E, Siggillino S, Conte G, Lanfranconi S, Bertani G A, Gaudino C, d'Orio P, Pallini R, D'Alessandris G, Meessen J, Nicolis E, Vasami' A, Dejana E, Bianchi A, Triulzi F, Latini R, Scola E

Magnetic susceptibility as a 1-year predictor of outcome in familial cerebral cavernous malformations: a pilot study

Eur Radiol 2023; 33:4158-4166

IF 5.9

Sassi S, Bianchi E, Diamanti L, Tornabene D, Sette E, Medici D, Matà S, Leccese D, Sperti M, Martinelli Ilaria, Ghezzi A, Mandrioli J, Iuzzolino V V, Dubbioso R, Trojsi F, Passaniti C, D'Alvano G, Filosto M, Padovani A, Mazzini L, De Marchi F, Zinno L, Andi N, Bongioanni P, Dolciotti C, Canali E, Toschi G, Petrucci A, et al, Pupillo E

Retrospective observational study on the use of acetyl-L-carnitine in ALS

J Neurol 2023; 270(11):5344-5357

IF 6

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 2023; 19(6):2265-2275

IF 14

Mangioni D, Chatenoud L, Colombo J, Palomba E, Guerrero F A, Bolis Matteo, Bottino N, Breda G, Chiaruttini M V, Fior G, Marotta M, Massobrio G, Matinato C, Muscatello A, Previtali P, Santambrogio S, Tardini F, Zuglian G, Grasselli G, Fumagalli R, Gori A, Stocchetti N, Monti G, Bandera A, MDR in FIERA study group

Multidrug-resistant bacterial colonization and infections in large retrospective cohort of mechanically ventilated COVID-19 patients

Emerg Infect Dis 2023; 29(8):1598-1607

IF 11.8

Alagna L, Mancabelli L, Magni F, Chatenoud L, Bassi G, Del Bianco S, Fumagalli R, Turroni F, Mangioni D, Migliorino G M, Milani C, Muscatello A, Nattino G, Picetti E, Pinciroli R, Rossi S, Tonetti T, Vargiolu A, Bandera A, Ventura M, Citerio G, Gori A

Changes in upper airways microbiota in ventilator-associated pneumonia

Intensive Care Med Exp 2023; 11:17

IF 3.5

Alagna L, Palomba E, Chatenoud L, Massafra R, Magni F, Mancabelli L, Donnini S, Elli F, Forastieri A, Gaipa G, Abbruzzese C, Fumagalli R, Munari M, Panacea A, Picetti E, Terranova L, Turroni F, Vaschetto R, Zoerle T, Citerio G, Gori A, Bandera A

Comparison of multiple definitions for Ventilator-Associated Pneumonia in patients requiring mechanical ventilation for non-pulmonary conditions: preliminary data from PULMIVAP, an Italian multi-centre cohort study

J Hosp Infection 2023; 140:90-95

IF 6.9

Gallus S, Lugo A, Stival C, Cerrai S, Clancy L, Filippidis F, Gorini G, Lopez M J, Lopez-Nicolas A, Molinaro S, Odone A, Soriano J B, Tigova O, Van den Brandt P A, Vardavas C, Fernandez E, TackSHS Project Investigators

Electronic cigarette use in 12 European countries: Results from the TackSHS survey

J Epidemiol 2023; 33:276-284

IF 4.7

Gorini G, Carreras G, Lugo A, Gallus S, Masocco M, Spizzichino L, Minardi V, PASSI coordinating group

Electronic cigarette use as an aid to quit smoking: Evidence from PASSI survey, 2014-2021

Prev Med 2023; 166:107391

IF 5.1

Jarach C M, Lugo A, Garavello W, Van den Brandt P, Odone A, Cederroth C R, Bosetti C, Gallus S

The role of diet on tinnitus onset: a hospital-based case-control study from Italy

Nutrients 2023; 15(3):621

IF 5.9

Cassano G, Nattino G, Belotti M, Cortellaro F, Cosentini R, Ghilardi G I, Paganuzzi M, Paglia S, Rossi C, Solbiati M, Bertolini G, Brambilla A M, Fenice network

Prognostic value of respiratory parameters for COVID-19 patients in the emergency department: results from the EC-COVID study

Intern Emerg Med 2023; 18:2075-2082

IF 4.6

Nattino G, Paganuzzi M M, Ghilardi G I, Costantino G, Rossi C, Cortellaro F, Cosentini R, Paglia S, Migliori M, Bertolini G

Strategies to convert hospital beds for COVID-19 patients to minimize emergency department overcrowding

Health Serv Manage Res 2023; 7:9514848231218648

IF 2.1

Andreella A, Mira A, Balafas S, Wit E C, Ruggeri F, Nattino G, Ghilardi G, Bertolini G

A predictive model for planning emergency events rescue during COVID-19 in Lombardy, Italy

Stat Methods Appt 2023; E-pub

IF 1

Amerio A, Stival C, Bosetti C, Carreras G, Fanucchi T, Gorini G, Lugo A, Pacifici R, Serafini G, Odone A, Gallus S, Lost in Toscana Study Investigators

Cannabis use in repeated representative cross-sectional studies on Italian adults after the COVID-19 pandemic

J Psychiatr Res 2023; 164:382-388

IF 4.8

Gallus S, Mosconi G, Stival C, Amerio A, Bertolini G, Bosetti C, Cavalieri D'Oro L, Fanucchi T, Iacoviello L, Lugo A, Stuckler D, Vigezzi G P, Zucchi A, Odone A, Lost in Lombardia Project Investigators

Who are the superheroes? A cross-sectional study on the determinants of good health among Italian older adults

Aging Clin Exp Res 2023; 35(12):2961-2969

IF 4

Amerio A, Stival C, Lugo A, Fanucchi T, Cavalieri D'Oro L, Iacoviello L, Odone A, Stuckler D, Zucchi A, Serafini G, Gallus S, LOST in Lombardia Study Investigators

COVID-19 pandemic impact on mental health in a large representative sample of older adults from the Lombardy region, Italy

J Affect Disord 2023; 325:282-288

IF 6.6

Bertuccio P, Vigezzi G P, Amerio A, Cavalieri D'Oro L, Iacoviello L, Stuckler D, Signorelli C, Zucchi A, Gallus S, Odone A, Lost in Lombardia Project Investigators

Health and social home services among community-dwelling older people during COVID-19: Results from the cross-sectional LOST in Lombardia project

Scand J Public Health 2023; E-pub

IF 3.4

Gallus S, Bosetti C, Gorini G, Stival C, Boffi R, Lugo A, Carreras G, Veronese C, Santucci C, Pacifici R, Tinghino B, Zaga V, Russo P, Cattaruzza M S, COSMO-IT Investigator

The association between tobacco smoking, second-hand smoke and novel products, and COVID-19 severity and mortality in Italy. Results from the COSMO-IT study

J Epidemiol 2023; 33:367-371

IF 4.7

Gallus S, Scala M, Possenti I, Jarach C M, Clancy L, Fernandez E, Gorini G, Carreras G, Malevolti M C, Commar A, Fayokun R, Gouda H N, Prasad V M, Lugo A

The role of smoking on COVID-19 progression: a comprehensive meta-analysis

Eur Respir Rev 2023; 32(167) :220191

IF 7.5

ATTIVITA' FORMATIVE 2023

NOME CORSO & DURATA	OBIETTIVI	STUDENTI FORMATI E REQUISITI RICHIESTI
Specialista in Ricerca Biomedica 3 anni	Il programma del corso si basa sul concetto di "training on the job", che non contempla una specifica attività didattica, ma una stretta interazione fra la preparazione culturale già acquisita all'università e l'esperienza pratica acquisibile in Istituto. Ciascun studente è inserito in un gruppo di ricerca ed è attivamente coinvolto nei progetti in corso, potendo così partecipare alla pianificazione, esecuzione e valutazione critica delle ricerche in ambito sperimentale e clinico-epidemiologico. Inoltre, gli studenti partecipano a frequenti corsi e seminari.	1 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.
Corso di Perfezionamento in Scienze Farmacologiche (Dottorato di Ricerca) 3 anni	L'obiettivo del corso è di formare ricercatori che alla fine del percorso possano avere raggiunto un'indipendenza nel progettare e condurre i progetti di ricerca. Il percorso formativo è caratterizzato da uno stretto rapporto fra la preparazione culturale avanzata e l'esperienza pratica di ricerca sperimentale (o clinica), cui è dato il maggior risalto. Ciascun allievo è inserito in un gruppo di ricerca ed è attivamente coinvolto nei	3 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.

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

Corso PhD 4 anni	Il corso, della durata media di quattro anni, è destinato a laureati con esperienza di ricerca, buona conoscenza della lingua inglese e attitudine al lavoro di gruppo. Gli studenti svolgono la loro attività di specializzazione prevalentemente in un laboratorio dell'Istituto e sono progressivamente inseriti nei programmi di ricerca in corso. Essi sono tenuti a frequentare lezioni, seminari, corsi e convegni e ad utilizzare la biblioteca interna. L'Istituto fornisce a tutti l'accesso alle basi di dati di biomedicina e alle principali riviste scientifiche. Dopo l'ottenimento del titolo, per molti allievi si apre l'opportunità di trascorrere uno o più anni in laboratori all'estero.	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 2023 aggiunti 2 eventi RES) - N° di eventi residenziali accreditati: 2 - N° di crediti rilasciati per eventi residenziali: 483,5 - N° di eventi residenziali (FAD BLENDED) accreditati: 0 - N° di crediti rilasciati per eventi residenziali (FAD BLENDED): 0 - N° di partecipanti agli eventi residenziali: 45 - N° degli eventi di formazione sul campo attività di ricerca presentati all'accreditamento: 39 (dopo Istruttoria Principale, durante il 2023 tolti 6 eventi ed aggiunti 2 di FSC)

		- N° di eventi di formazione sul campo (attività di ricerca) accreditati: 35 - N° di crediti rilasciati per eventi di formazione sul campo (attività di ricerca): 14.847 - N° di partecipanti agli eventi di formazione sul campo: 1.472 - Partecipanti 2023: 1.517 → (35 progetti formazione sul campo e 2 eventi residenziali) -N° totale crediti: 15.330,50 → (35 progetti formazione sul campo e 2 eventi residenziali) 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, terapista della neuro e psicomotricità dell'età evolutiva)
Corso per Clinical Monitor 22 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.	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).
Scientific writing academy 1 settimana	Il corso fornisce agli studenti la capacità di scrivere un articolo scientifico basato su risultati sperimentali. Il corso guida gli studenti ad un processo di analisi critica, risolvendo problemi pratici e affrontando scenari comuni di esperienza di ricerca scientifica. Fornisce gli strumenti necessari per la pubblicazione di articoli in riviste internazionali di alto impatto scientifico, la comprensione delle procedure previste dal processo di peer-review e nozioni per la stesura di domande di partecipazione a bandi competitivi.	0 il corso non è stato attivato a causa di impedimenti organizzativi. 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.
Corso per Summer Student 7 settimane	L'offerta didattica consiste nella partecipazione a progetti di ricerca sperimentale. Gli studenti durante il corso hanno l'opportunità di essere inseriti in un laboratorio, utilizzando gli strumenti utilizzati comunemente nella ricerca sperimentale	14 Il corso è rivolto a giovani interessati alla biomedicina che hanno terminato il quarto anno della scuola media superiore,

	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.	
Alternanza Scuola Lavoro Bergamo 2 settimane	Il corso offre agli studenti la possibilità di vivere l'esperienza del laboratorio osservando l'attività di ricerca quotidiana svolta dai ricercatori e di accedere ad una biblioteca ben aggiornata. Le principali tematiche affrontate sono: Bioingegneria, Medicina Molecolare, Medicina Renale, e Malattie Rare.	1 Il corso è rivolto a giovani interessati alla biomedicina che hanno terminato il quarto anno della scuola media superiore.
Alternanza Scuola Lavoro Milano 2 settimane	Il corso offre agli studenti la possibilità di vivere l'esperienza del laboratorio osservando l'attività di ricerca quotidiana svolta dai ricercatori e di accedere ad una biblioteca ben aggiornata. Le principali tematiche affrontate sono: Ambiente e Salute, Biochimica e Farmacologia Molecolare, Neuroscienze e Oncologia.	4 Il corso è rivolto a giovani interessati alla biomedicina che hanno terminato il quarto anno della scuola media superiore.