



UNIVERSITÀ DI MILANO
“CENTRO DINO FERRARI”
PER LA DIAGNOSI E LA TERAPIA DELLE MALATTIE
NEUROMUSCOLARI E NEURODEGENERATIVE



FONDAZIONE I.R.C.C.S. CA' GRANDA
OSPEDALE MAGGIORE POLICLINICO
ISTITUTO DI RICOVERO E CURA A CARATTERE
SCIENTIFICO DI NATURA PUBBLICA

CONSUNTIVO DELLA RICERCA

SCIENTIFICA

2019

SEZIONI DEL “CENTRO DINO FERRARI”

LABORATORIO DI BIOCHIMICA, GENETICA E COLTURE CELLULARI	Pag. 3
LABORATORIO CELLULE STAMINALI NEURALI	Pag. 19
U.O.S.D. MALATTIE NEUROMUSCOLARI E RARE	Pag. 39
U.O.S.D. MALATTIE NEURODEGENERATIVE	Pag. 45
LABORATORIO PARKINSON E ALTRI DISTURBI DEL MOVIMENTO	Pag. 59
LABORATORIO DI CELLULE STAMINALI	Pag. 67
SEDE DISTACCATA DEL “CENTRO DINO FERRARI” PRESSO U.O.NEUROLOGIA – STROKE UNIT E LABORATORIO DI NEUROSCIENZE UNIVERSITA’ DEGLI STUDI DI MILANO I.R.C.C.S. ITITUTO AUXOLOGICO ITALIANO	Pag. 79
ELENCO PUBBLICAZIONI 2019	Pag. 111

LABORATORIO DI BIOCHIMICA E GENETICA

RESPONSABILE

Prof. Giacomo P. Comi, Professore Ordinario

MEDICI

Prof. Stefania Corti

Dott. Francesca Magri

Dott. Alessandra Govoni

Dott. Daniele Velardo

Dott. Megi Meneri

Dott. Roberta Brusa

Dott: Eleonora Mauri

Dott. Delia Gagliardi

Dott. Elena Abati

Dott. Gianluca Costamagna

BIOLOGI

Dott. Roberto Del Bo

Dott. Sabrina Lucchiari

Dott. Daniela Piga

BIOTECNOLOGI

Dott. Dario Ronchi

Dott. Serena Pagliarani

TECNICI

Sig.ra Andreina Bordoni

Sig. Francesco Fortunato

Nel corso dell'ultimo anno abbiamo consolidato la ricerca delle cause molecolari di patologie neuromuscolari grazie all'uso di tecnologie di sequenziamento di nuova generazione (NGS). Il campo delle malattie mitocondriali ha beneficiato di questo avanzamento e ha visto il concludersi di altri studi collaborativi.

MIOPATIE E DISTROFIE MUSCOLARI

Disegno e validazione di un pannello multi-genico per l'analisi NGS (sequenziamento di nuova generazione) di pazienti con distrofie muscolari dei cingoli.

Le distrofie muscolari dei cingoli costituiscono un eterogeneo gruppo di malattie muscolari al cui interno sono ricomprese circa 40 forme di malattia e difetti molecolari a trasmissione recessiva o dominante in più di 30 geni. Il nostro gruppo si occupa da anni dello studio di queste patologie ed ha a disposizione un repertorio completo di tecniche per l'identificazione delle cause genetiche e l'analisi delle conseguenze di questi difetti sul muscolo e su cellule ottenute dai pazienti. Queste tecniche comprendono: protocolli classici di istologia, colorazioni istochimiche ed immunofluorescenza, microscopia elettronica, dosaggio quantitativo di proteine muscolari in condizioni riducenti o native, analisi qualitativa e quantitativa dei trascritti dei geni malattia. L'individuazione delle alterazioni molecolari nel DNA dei pazienti si avvale del sequenziamento diretto gene-candidato e di tecniche di ibridazione con sonde fluorescenti, tra cui il MLPA. L'uso di un approccio di sequenziamento di nuova generazione consente di velocizzare l'ottenimento di una diagnosi ed abbattere i costi del sequenziamento tradizionale. La disponibilità di algoritmi per la prioritizzazione delle varianti e la validazione dei risultati ottenuti è decisivo per tradurre la scoperta molecolare in una diagnosi utile e, laddove possibile, "azionabile" sul piano terapeutico. Abbiamo pertanto disegnato un pannello basato su arricchimento Agilent Haloplex per l'analisi simultanea di 54 geni coinvolti nelle distrofie muscolari dei cingoli e in alcune miopatie che possono manifestarne una sovrapposizione (overlap) clinica. Sono state generate ed analizzate le librerie di 29 pazienti indipendenti che sono state corse, dopo "pooling" dei campioni, su una piattaforma Illumina Miseq. L'analisi delle varianti identificate dopo de-multiplexing e allineamento con il genoma di riferimento ha consentito di stabilire una diagnosi probabile o certa in 24 soggetti (83%). Le analisi condotte sul muscolo dei pazienti, gli studi di segregazione nei familiari disponibili e la precedente descrizione delle varianti in letteratura ha confermato la patogenicità delle mutazioni individuate.

Studio longitudinale a lungo termine per valutare la storia naturale di pazienti affetti da Distrofia Muscolare di Duchenne portatori di specifiche mutazioni

La distrofia muscolare di Duchenne è una delle più frequenti patologie neuromuscolari ad esordio in età infantile. Negli ultimi anni sono stati proposti numerosi approcci terapeutici. Sinora sono stati approvati due farmaci, Ataluren in Europa e Eteplirsén negli Stati Uniti, rispettivamente coinvolti nel *read-through* dei codoni di stop e nello skipping dell'esone 51 per ripristinare il frame di lettura.

Scopo di questo studio internazionale multicentrico è di valutare le variazioni cliniche a 36 mesi, tramite 6MWT, dei pazienti deambulanti affetti da distrofia muscolare di Duchenne e portatori di mutazioni sottoponibili a terapie che prevedono lo skipping degli esoni 44, 45, 51 o 53. Sono stati inclusi 92 pazienti dei quali 24 portatori di delezioni sottoponibili a skipping dell'esone 44, 27 dell'esone 45, 18 dell'esone 51 e 28 dell'esone 53. Cinque pazienti con una singola delezione dell'esone 52 sono stati considerati sia nel sottogruppo 'esone 51' che in quello 'esone 53'. La differenza tra i diversi sottogruppi di mutazioni è risultata non significativa a 12 mesi, ma significativa a 24 ($p \leq 0.05$) e 36 mesi ($p \leq 0.01$).

Le mutazioni che possono essere sottoposte a skipping dell'esone 53 presentano valori di 6MWT inferiori rispetto agli altri sottogruppi al baseline; inoltre la diminuzione dei metri

percorsi è maggiore rispetto ai pazienti con mutazioni sottoponibili a skipping dell'esone 44. Al contrario mutazioni idonee allo skipping dell'esone 45 hanno un pattern di progressione variabile.

Delezioni di singolo esone sono in generale associate a variazioni nel tempo meno drastiche, con alcune eccezioni in singoli casi.

In conclusione, questi risultati confermano che la progressione della patologia neuromuscolare varia a seconda della delezione di cui il paziente è portatore, anche se tali differenze sono significative solo a partire dai 24 mesi di follow up. Questa informazione è molto rilevante dal momento che sono in corso sperimentazioni cliniche mirate a pazienti portatori di questi sottogruppi di mutazione.

Brognà C, Coratti G, Pane M, Ricotti V, Messina S, D'Amico A, Bruno C, Vita G, Berardinelli A, Mazzone E, Magri F, Ricci F, Mongini T, Battini R, Bello L, Pegoraro E, Baranello G, Previtali SC, Politano L, Comi GP, Sansone VA, Donati A, Bertini E, Muntoni F, Goemans N, Mercuri E; con la partecipazione del gruppo internazionale DMD.

Long-term natural history data in Duchenne muscular dystrophy ambulant patients with mutations amenable to skip exons 44, 45, 51 and 53.

PLoS One. 2019 Jun 31;14(7):e0220714. doi: 10.1371/journal.pone.0218683. eCollection 2019.

Descrizione delle caratteristiche cliniche di pazienti con cardiomiopatia correlata a mutazione nel gene LMNA

Mutazioni nel gene *LMNA*, codificante per la proteina lamina A/C, sono state associate a manifestazioni neuromuscolari e cardiache. Questo studio osservazionale multicentrico si propone di migliorare la conoscenza della storia naturale delle patologie LMNA-correlate. I dati sono stati raccolti da 13 centri neuromuscolari italiani dal 2000 al 2018. Un totale di 164 soggetti portatori di mutazione nel gene LMNA è stato sottoposto a una valutazione neurologica e cardiologica accurata. La mediana di follow up clinico è pari a 10 anni.

L'età mediana di arruolamento dei pazienti è di 38 anni. Non è stata rilevata una prevalenza di sesso (51% femmine e 49% maschi). Le manifestazioni neuromuscolari precedono i sintomi cardiaci di circa 11 anni, ma al termine del periodo di osservazione è presente una cardiopatia aritmica nel 90% dei casi. Complessivamente, 10 pazienti (6%) sono deceduti, 14 (9%) sono stati sottoposti a trapianto cardiaco e 32 (20%) hanno presentato aritmie ventricolari maligne. Dal punto di vista dei sintomi muscolari, un quadro di insufficienza respiratoria era presente in 6 pazienti, mentre 15 soggetti hanno perso la deambulazione. Fibrillazione atriale e blocco atrioventricolare di II e III grado sono stati osservati rispettivamente nel 56% e 51% dei pazienti con sintomi cardiaci e neuromuscolari, e nel 37% e 33% di quelli con sintomi solo cardiaci.

Questo studio presenta alcune limitazioni derivanti dalla raccolta retrospettiva dei dati. Le manifestazioni neuromuscolari sono risultate più frequenti rispetto a precedenti studi pubblicati in letteratura. I risultati di questo studio hanno evidenziato come molti pazienti con mutazioni in *LMNA* sviluppino sintomi neurologici durante la quarta decade di vita e manifestazioni cardiache progressivamente ingravescenti durante la decade successiva. Inoltre, questi sintomi possono raggiungere gravità tali da mettere il paziente in pericolo di vita, soprattutto per quanto riguarda le aritmie cardiache descritte.

Peretto G, Di Resta C, Perversi J, Forleo C, Maggi L, Politano L, Barison A, Previtali SC, Carboni N, Bruno F, Pegoraro E, D'Amico A, Rodolico C, Magri F, Manzi RC, Palladino A, Isola F, Gigli L, Mongini TE, Semplicini C, Calore C, Ricci G, Comi GP, Ruggiero L, Bertini E, Bonomo P, Nigro G, Resta N, Emdin M, Favale S, Siciliano G, Santoro L, Sinagra G,

Limongelli G, Ambrosi A, Ferrari M, Golzio PG, Bella PD, Benedetti S, Sala S; Italian Network for Laminopathies (NIL).

Cardiac and Neuromuscular Features of Patients with LMNA-Related Cardiomyopathy.

Ann Intern Med. 2019 Sep 3. doi: 10.7326/M18-2768.

Modelli cellulari e approcci cellulo-mediati per il trattamento della Distrofia Muscolare di Duchenne e di Becker

Le Distrofie muscolari di Duchenne e Becker sono tra le patologie muscolari più comuni. Attualmente non esistono trattamenti terapeutici efficaci e risolutivi. Queste malattie sono causate da mutazioni nel gene della Distrofina, che determinano l'assenza/riduzione della proteina o la produzione di una proteina tronca. Il risultato è una degenerazione muscolare progressiva che si manifesta come debolezza muscolare seguita da coinvolgimento cardiaco, respiratorio e morte precoce. Purtroppo, i modelli animali presentano limiti nel riprodurre alcuni aspetti della malattia umana e nel predire gli effetti dei trattamenti farmacologici: questo ha richiesto lo sviluppo di modelli *in vitro* più accurati. L'avanzamento di queste nuove tecnologie cellulari è stato ostacolato dalla difficile impresa di ottenere cellule muscolari scheletriche mature e cellule satellite. In questo articolo abbiamo discusso le metodiche recentemente sviluppate che hanno consentito il differenziamento in muscolo scheletrico delle cellule staminali pluripotenti indotte umane (hiPSC). Questi nuovi sistemi cellulari costituiscono un buon modello perché ricapitolano le caratteristiche della malattia, includendo anche l'infiammazione e la scarsa capacità rigenerativa miogenica, e possono fornire una piattaforma utile per studiare e realizzare trattamenti genetici e farmacologici futuri che siano in grado di recuperare almeno parzialmente il fenotipo. Il miglioramento di questi modelli si è basato anche sullo sviluppo nel campo della modificazione genomica, che è un approccio promettente non solo per correggere le mutazioni nella distrofina ma anche per modulare i meccanismi che controllano lo sviluppo, la rigenerazione e l'insorgenza della malattia. I risultati ottenuti finora dimostrano la concreta possibilità di creare un accurato modello *in vitro* di Distrofia Muscolare di Duchenne e Becker, partendo da hiPSCs, che possa essere utilizzato per studi patogenetici e di screening farmacologico.

Daniela Piga, Sabrina Salani, Francesca Magri, Roberta Brusa, Eleonora Mauri, Giacomo P. Comi, Nereo Bresolin, Stefania Corti.

Human induced pluripotent stem cell models for the study and treatment of Duchenne and Becker muscular dystrophies

Ther Adv Neurol Disord. 2019 May 3;12:1756286419833478.

Marcatori istologici per la diagnosi di distrofia oculofaringea

Lo scopo dello studio è indagare il ruolo dell'accumulo della proteina PABPN1 insolubile nei nuclei delle fibre muscolari come strumento di diagnosi di casi atipici di distrofia muscolare oculofaringea (OPMD).

Sono state analizzate mediante tecniche di immunofluorescenza 423 biopsie provenienti da diversi centri italiani, così suddivise: 30 biopsie muscolari di pazienti OPMD geneticamente testati, 30 biopsie di soggetti non affetti da disturbi neuromuscolari, 220 biopsie di pazienti geneticamente non diagnosticati ma che presentavano ptosi o disturbi della deglutizione, progressiva debolezza muscolare e/o vacuoli *rimmed*; infine sono state incluse nello studio 143 biopsie muscolari di pazienti affetti da altre malattie neuromuscolari.

I risultati ottenuti hanno evidenziato come l'accumulo insolubile di PABPN1 nei nuclei è rilevabile in modo rapido, sensibile (100%) e specifico (96%). Lo studio retrospettivo ha permesso inoltre di individuare nella coorte di pazienti analizzata 23 nuovi casi di OPMD nel gruppo di pazienti affetti da malattie muscolari non specifiche.

In tutti i casi confermati geneticamente (30 già noti, 23 identificati in questo studio), la percentuale di nuclei positivi è risultata essere > 3% (mediana 4,4%). Non è stata trovata alcuna correlazione tra la percentuale di nuclei immunopositivi e il numero di ripetizioni della tripletta espansa, la gravità dei sintomi e la durata della malattia.

La diagnosi di distrofia muscolare oculofaringea è in alcuni casi ritardata con grave dispersione di risorse e di tempo. Un numero rilevante di pazienti presenta sintomi e risultati di analisi istologiche (come la presenza di miositi a corpi inclusi e l'oftalmoplegia esterna progressiva) che spesso si sovrappongono ai quadri clinici di altre malattie muscolari. L'accumulo nucleare di PABPN1 rappresenta invece un metodo affidabile a fini diagnostici, indirizzando i clinici verso l'analisi genetica, anche quando il fenotipo non è ben delineato. Può quindi essere considerato un marker diagnostico affidabile nei casi di sospetto OPMD e preliminare quando non sono chiari gli indizi clinici e istologici.

V Galimberti, R Tironi, A Lerario, M Scali, R Del Bo, C Rodolico, T Brizzi, S Gibertini, L Maggi, M Mora, A Toscano, G P Comi, M Sciacco, M Moggio, L Peverelli

Value of Insoluble PABPN1 Accumulation in the Diagnosis of Oculopharyngeal Muscular Dystrophy

Eur J Neurol, 2019 Nov 26 [Online ahead of print] PMID: 31769567 IF: 4.38

MALATTIE MITOCONDRIALI

Identificazione di un nuovo difetto genetico associato ad alterazione nel metabolismo della valina in una forma di sindrome distonico-atassica a lenta progressione.

Da poco più di un anno abbiamo iniziato un programma per l'identificazione di nuovi difetti molecolari in casi familiari privi di diagnosi genetica. Per il raggiungimento di questo obiettivo ci avvaliamo di un protocollo di sequenziamento di nuova generazione di librerie ottenute arricchendo l'intera regione codificante del DNA (esoma) nei soggetti affetti e nei loro familiari sani. La prioritizzazione delle varianti identificate è fatta usando pipeline di analisi sviluppate in autonomia e applicate a software commerciali. La validazione delle varianti candidate si avvale dell'uso di tecniche molecolari, biochimiche e immunocitochimiche applicate a tessuti e cellule provenienti dai pazienti. Questa strategia ha consentito di identificare il difetto molecolare alla base della sindrome distonico-atassica che costituisce l'aspetto centrale del quadro clinico condiviso da due sorelle con un esordio infantile e una lenta ma costante progressione nelle ultime tre decadi. L'analisi di sequenziamento NGS dell'esoma ha evidenziato due varianti nel gene ECHS1 che codifica per l'enoil-coA reductasi mitocondriale coinvolta sia nel metabolismo degli amminoacidi ramificati che in una fase iniziale della ossidazione degli acidi grassi a catena corta. Mutazioni in questo gene erano state in precedenza associate a gravi encefalopatie pediatriche simili alla Sindrome di Leigh. Abbiamo caratterizzato le varianti trovate a livello trascrizionale (RT-PCR, qRT-PCR), proteico (SDS-PAGE) e biochimico (dosaggio spettrofotometrico dell'attività biochimica residua delle crotonasi seguendo la scomparsa del picco del substrato). Le cellule ottenute dalle pazienti sono state impiegate per studi di immunocitochimica per chiarire la localizzazione della proteina mutata e gli effetti delle mutazioni sulla omeostasi mitocondriale. Esperimenti provocativi con somministrazione di valina nel medium di coltura sono in corso per monitorare il rilascio di acido lattico, marcatori di stress mitocondriale, accumulo di acidi grassi e l'induzione di marcatori apoptotici. Nel complesso questo approccio ha consentito di chiarire un caso di atassia recessiva noto da dieci anni, associando mutazioni nel gene ECHS1 ad una nuova presentazione neurologica.

Aspetti clinici, molecolari e biochimici di nuove mutazioni *DNA2* identificate mediante NGS

Il DNA mitocondriale è replicato e riparato grazie ad un set di proteine ed enzimi codificati da geni nucleari e poi importati nel mitocondrio. Uno di questi è DNA2 un enzima multimerico che presenta molteplici attività catalitiche agendo come nucleasi, ATPasi ed elicasi. Siamo stati i primi, nel 2013, a dimostrare che mutazioni nel gene DNA2 si associavano ad una forma di miopatia mitocondriale familiare o sporadica con accumulo nel muscolo scheletrico di molecole di DNA mitocondriale parzialmente delete. Da allora nuovi casi adulti e pediatrici di malattia mitocondriale associati a difetti in questo gene sono stati riportati come singole descrizioni da vari autori.

In questo nuovo lavoro abbiamo riunito 4 nuove mutazioni del gene DNA2 associate a forme di miopatia mitocondriale con e senza PEO e ne abbiamo dato una formale dimostrazione di patogenicità attraverso un rigoroso esame biochimico. La clinica dei pazienti è commentata alla luce dei dati genetici. Un aspetto interessante che emerge è la grande incidenza di patologie tumorali nei pazienti mutati e nei loro famigliari, un aspetto che va in parallelo con la documentata over espressione di DNA2 in campioni di biopsie effettuate per finalità oncologiche. Dato che non è escluso che DNA2 abbia anche una localizzazione nucleare, i nostri dati potrebbero presentare *in vivo* elementi a sostegno di un ruolo di salvaguardia del genoma nucleare anche per l'enzima umano (nell'ortologo in lievito questo dato è già molto evidente).

Ronchi D, Liu C, Caporali L, Piga D, Li H, Tagliavini F, Valentino ML, Ferrò MT, Bini P, Zheng L, Carelli V, Shen B, Comi GP.

Novel mutations in DNA2 associated with myopathy and mtDNA instability.

Ann Clin Transl Neurol. 2019 Sep;6(9):1893-1899. doi: 10.1002/acn3.50888. Epub 2019 Sep 2.

Valutazione del dolore muscolare e della risposta farmacologica in una coorte di pazienti italiani con malattia mitocondriale.

Il dolore muscolare è un elemento comune a molte malattie neuromuscolari che includono miopatie, neuropatie periferiche e malattie del motoneurone. Anche se il dolore mialgico è anche riportato come una possibile componente della malattia mitocondriale nessuno studio finora ha mai considerato in modo esaustivo questo aspetto. Abbiamo tentato di colmare questo vuoto di conoscenza attraverso la revisione dei dati clinici di circa 1400 pazienti affetti da malattie mitocondriali e facenti parti del database dei pazienti mitocondriali italiani. In particolare, abbiamo evidenziato la presenza di dolore muscolare nella storia clinica di quasi il 12% di questi soggetti. E' stato osservato in pazienti con miopatie mitocondriali come la cPEO ma anche in fenotipi multi sistemici come le sindromi MELAS, MERRF, Kearns Sayre, NARP, MNGIE e Leigh. La maggior parte dei pazienti mostra un dolore legato allo sforzo fisico ma anche mialgia a riposo e focale o multifocale sono comuni. Il sintomo appare più evidente nei pazienti con mutazioni nel DNA mitocondriale rispetto a quelli con mutazioni nel DNA nucleare ma d'altro canto questi ultimi presentano una migliore risposta alla terapia farmacologica. Nel complesso però solo il 34% dei pazienti mitocondriali con mialgia sembra responsivo alla terapia. In conclusione questo studio conferma che la mialgia è un fattore trascurato nei pazienti mitocondriali e molto debilitante vista la scarsa risposta farmacologica dei pazienti.

Filosto M, Cotti Piccinelli S, Lamperti C, Mongini T, Servidei S, Musumeci O, Tonin P, Santorelli FM, Simoncini C, Primiano G, Vercelli L, Rubegni A, Galvagni A, Moggio M, Comi GP, Carelli V, Toscano A, Padovani A, Siciliano G, Mancuso M.

Muscle pain in mitochondrial diseases: a picture from the Italian network.

Incidenza della lipomatosi in una coorte di pazienti italiani affetti da malattia mitocondriale

I lipomi sono spesso stati associati con mutazioni nel DNA mitocondriale e prevalentemente osservati in pazienti con mutazioni nel tRNA mitocondriale della lisina che è anche il tRNA che ospita la maggior parte delle mutazioni legate alla sindrome MERRF. L'incidenza dei lipomi in una grande coorte di pazienti affetti da malattia mitocondriale non era mai stata descritta. Abbiamo voluto monitorare questo aspetto grazie ai dati raccolti in occasione della creazione del network italiano delle malattie mitocondriali. In totale, su 1300 registrazioni, abbiamo trovato indicazione di lipomi in 12 pazienti, in un quinto di questi la lipomatosi multipla rappresentava l'unica manifestazione clinica. Più della metà dei pazienti presentavano una diagnosi di MERRF. Il secondo sintomo più comune era la miopatia, trovata in quasi un terzo dei pazienti. La presenza dei lipomi si associava ad alti livelli di lattato. Dal punto di vista mutazionale la gran parte dei pazienti affetti da lipomi aveva una mutazione nel gene del tRNA della lisina mitocondriale.

I nostri dati confermano che i lipomi sono un segno raro nella malattia mitocondriale con una forte associazione tra la presenza di lipomi multipli e il coinvolgimento del tRNA della lisina. D'altro canto, possiamo considerare i lipomi, pur nella loro rarità, come un segnale indicativo di malattia mitocondriale, anche in quei pazienti che li presentano in una forma isolata.

Musumeci O, Barca E, Lamperti C, Servidei S, Comi GP, Moggio M, Mongini T, Siciliano G, Filosto M, Pegoraro E, Primiano G, Ronchi D, Vercelli L, Orsucci D, Bello L, Zeviani M, Mancuso M, Toscano A.

Lipomatosis Incidence and Characteristics in an Italian Cohort of Mitochondrial Patients.
Front Neurol. 2019 Feb 27;10:160. doi: 10.3389/fneur.2019.00160.

Disturbi gastrointestinali e co-morbidità neurologiche in pazienti con Sindrome MELAS.

La Sindrome MELAS (Mitochondrial Encephalomyopathy, Lactic Acidosis, Stroke-like episodes) è una patologia mitocondriale ad ereditarietà matrilineare ed è causata da mutazione frequente, m.3243A>G, che colpisce la regione del tRNA mitocondriale per la Leucina e che comporta un'alterazione del metabolismo energetico. Sebbene l'età d'insorgenza sia tipicamente l'infanzia, una modesta percentuale di pazienti (1-6%) manifesta la malattia dopo i 40 anni e solitamente presenta un decorso meno aggressivo. Le manifestazioni cliniche sono variabili e dipendono principalmente dal grado di eteroplasmia presente nei tessuti e negli organi dei pazienti. Le caratteristiche principali includono debolezza muscolare, diabete, acidosi lattica, disturbi gastrointestinali ed episodi tipo ictus, che rappresentano il sintomo osservato più comune. In questo articolo abbiamo descritto il caso di un paziente di 50 anni che si presentava con episodi di pseudo-ostruzione intestinale (IPO) recidivante, che hanno condotto ad una diagnosi tardiva di MELAS. Successivamente alla diagnosi il paziente è andato incontro a diversi episodi tipo ictus in un breve periodo di tempo e ha sviluppato un decadimento cognitivo rapidamente progressivo e sfortunatamente fatale. Nel lavoro abbiamo sottolineato le manifestazioni cliniche variabili della Sindrome MELAS in questo paziente atipico, in particolare descrivendo l'ileo paralitico e gli episodi tipo ictus, ed abbiamo concluso che probabilmente il primo sintomo potrebbe aver spinto gli altri, portando ad un declino inesorabile. In aggiunta, abbiamo fornito una breve revisione della letteratura riguardante i casi di IPO nei pazienti MELAS con mutazione m.3243A>G ed abbiamo indagato le relazioni con gli episodi cerebrovascolari. Concludendo i nostri dati sottolineano l'importanza del tempestivo riconoscimento dei disturbi gastrointestinali per prevenire le co-morbidità neurologiche.

Delia Gagliardi, Eleonora Mauri, Francesca Magri, Daniele Velardo, Megi Meneri, Elena Abati, Roberta Brusa, Irene Faravelli, Daniela Piga, Dario Ronchi, Fabio Triulzi, Lorenzo Peverelli, Monica Sciacco, Nereo Bresolin, Giacomo Pietro Comi, Stefania Corti, Alessandra Govoni.

Can Intestinal Pseudo-Obstruction Drive Recurrent Stroke-Like Episodes in Late-Onset MELAS Syndrome? A Case Report and Review of the Literature.

Front Neurol. 2019 Jan 31;10:38. doi: 10.3389/fneur.2019.00038.

GLICOGENOSI MUSCOLARI

Approcci terapeutici nella Glicogenosi di tipo 2 (Malattia di Pompe)

La Glicogenosi di tipo 2 (malattia di Pompe) è una rara malattia metabolica causata dalla ridotta o assente attività enzimatica della alfa-glucosidasi acida (GAA), un enzima localizzato nei lisosomi, compartimento nel quale GAA è il solo enzima responsabile del catabolismo del glicogeno. Mutazioni nella sua sequenza codificante sono alla base di presentazioni cliniche del bambino, con una forma di cardiomiopatia ad esordio precoce, rapida progressione ed esito fatale ma anche nell'adulto (forma late-onset) dove si associano ad una forma di miopatia che può evolvere verso una patologia respiratoria debilitante.

L'unico approccio terapeutico fino a questo momento disponibile è il trattamento enzimatico sostitutivo (ERT) che si è rivelato decisivo nel cambiare la storia naturale della malattia pediatrica ma i cui effetti dell'adulto sono tutt'altro che chiariti. Questo lavoro nasce da un percorso di tesi sperimentale eseguito all'interno del laboratorio di Biochimica e Genetica e che ha provveduto a sviluppare e verificare in vitro gli effetti di una terapia basata su oligonucleotidi anti-senso per indurre un parziale recupero di attività nella forma adulta della patologia. Oltre a questa esperienza e alle ultime novità sull'utilizzo dell'ERT in questo manoscritto vengono anche commentati altri approcci innovativi come l'uso di farmaci che facilitano il passaggio attraverso codoni di stop prematuri, la terapia con chaperone farmacologici e l'uso di vettori virali come base per gli imminenti protocolli di terapia genica. Considerando gli investimenti prodotti nel settore e il grande set di approcci terapeutici attualmente in sviluppo è facile prevedere un ulteriore avanzamento nella terapia di questa patologia in tempi molto brevi.

Bellotti AS, Andreoli L, Ronchi D, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

Molecular Approaches for the Treatment of Pompe Disease.

Mol Neurobiol. 2019 Nov 12. doi:10.1007/s12035-019-01820-5.

Studio del ruolo del gene AGL in ambito neurologico e oncologico

La glicogenosi di tipo III (GSDIII) è una malattia genetica rara, con trasmissione autosomica recessiva, con abnorme accumulo di glicogeno nei tessuti, principalmente in fegato e muscolo scheletrico. È causata da mutazioni nel gene AGL che codifica per l'enzima deramificante (GDE). La malattia in genere compare nell'infanzia con epatomegalia, ritardo di crescita e crisi ipoglicemiche, mentre durante l'età adulta si sviluppano miopatia e spesso cardiomiopatia. Il nostro laboratorio studia da anni questa patologia attraverso il dosaggio del contenuto di glicogeno nei tessuti, il dosaggio dell'attività enzimatica e la diagnosi genetica. Abbiamo anche sviluppato un modello murino per la glicogenosi di tipo III che è stato ampiamente caratterizzato e che presenta le caratteristiche essenziali della malattia: epatomegalia, accumulo di glicogeno in tutti i tessuti, principalmente fegato e muscolo scheletrico, e intolleranza all'esercizio fisico. La caratterizzazione del modello animale è stata pubblicata su *BBA-Molecular basis of disease* nel 2014.

Il lavoro su questo modello si è sviluppato in un progetto finanziato da Telethon con il duplice scopo di:

- testare a lungo termine diete atte a limitare la deposizione di glicogeno.

- somministrare a topi privi dell'enzima la proteina GDE funzionale mediante virus adenoassociati, in collaborazione con il Dott. Federico Mingozzi del Genethon di Parigi.

Inoltre, la nostra collaborazione con il Prof. Dan Theodorescu dell'Università del Colorado ha prodotto uno studio sul ruolo del gene AGL nella patogenesi del cancro alla vescica sulla rivista *Carcinogenesis* nel 2019.

Il gene AGL è stato recentemente riconosciuto avere un ruolo come soppressore tumorale in modelli di xenotrapianto del tumore alla vescica. Inoltre, bassi livelli di espressione del gene AGL nei pazienti sono associati a prognosi sfavorevole, dato tuttora sconosciuto. Per comprendere meglio questo aspetto, è stato utilizzato un modello murino KO per il gene *Agl* che ricapitola le caratteristiche biochimiche ed istologiche della GSDIII. I topi KO esposti al carcinogeno N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine (BBN) hanno un'incidenza maggiore di tumore alla vescica rispetto ai topi wild-type. Per determinare se l'aumentata incidenza di tumore alla vescica sia dovuta alla diminuita espressione del gene *Agl* nell'urotelio, è stato specificamente sviluppato un modello di topo KO che esprime il gene stesso, e produce la proteina GDE, solo nell'urotelio (*Aglcko*). I topi *Aglcko*, a seguito di induzione della carcinogenesi mediante BBN, hanno una maggiore incidenza di tumore alla vescica rispetto ai topi controllo. Esperimenti di RNA sequencing hanno mostrato che ci sono 19 geni differentemente espressi nei tumori provenienti dai topi *Aglcko* rispetto a quelli insorti nei topi controllo. In base a questi dati, è stato possibile configurare una sorta di marker, chiamato 'Agl loss', che è stata in grado di distinguere con successo campioni provenienti da due gruppi di pazienti con tumore alla vescica.

Questi risultati portano:

- ad associare la ridotta espressione del gene AGL nella carcinogenesi
- alla possibilità di misurare i suoi livelli di espressione o quelli del marcatore, nell'urotelio come "segnale di pericolo" per il cancro alla vescica, in soggetti a rischio come gli anziani fumatori maschi.

Sottnik JL, Mallareddy V, Chauca-Diaz A, Chauca-Diaz A, Ritterson Lew C, Owens C, Dancik GM, Pagliarini S, Lucchiarini S, Moggio M, Ripolone M, Comi GP, Frierson HF, Clouthier D, Theodorescu D.

Elucidating the role of Agl in bladder carcinogenesis by generation and characterization of genetically engineered mice.

Carcinogenesis. 2019;40(1):194–201. doi:10.1093/carcin/bgy139. Impact factor: 4.004

CANALOPATIE MUSCOLARI

Studio multicentrico per la caratterizzazione di mutazioni nel gene *SCN4A*

Le canalopatie muscolari sono caratterizzate da un'alterata eccitabilità della membrana delle cellule muscolari scheletriche. Si dividono in miotonie non-distrofiche e paralisi periodiche. L'esordio avviene soprattutto nelle prime due decadi di vita e si presentano con rigidità muscolare, dolore, debolezza e fatica, progressive o no, transienti o fisse. Sono causate da mutazioni nei geni *CLCN1*, *SCN4A*, *CACNA1S* e *KCNJ2* che codificano rispettivamente per i canali muscolari di cloro, sodio, calcio e potassio. Negli ultimi anni abbiamo caratterizzato un'ampia coorte di pazienti affetti sia da miotonie non-distrofiche che da paralisi periodica. Nel nostro laboratorio le indagini genetiche sono eseguite sia come completamento dell'iter diagnostico sia come aspetto di pura ricerca sulle cause genetiche delle canalopatie muscolari nella popolazione italiana. Relativamente al canale del cloro muscolo specifico (*CLCN1*), l'attività di diagnostica ha permesso di collezionare in pochi anni una coorte di oltre 100 soggetti Thomsen/Becker. Corredata da studi funzionali e di espressione in sistemi in vitro per

casi selezionati questa casistica ha permesso la pubblicazione di un elevato numero di lavori, frutto di una collaborazione estesa a tutto il territorio nazionale. In particolare, nel nostro Laboratorio si è svolta la parte genetico-molecolare, mentre gli esperimenti di elettrofisiologia sono stati effettuati presso l'Università degli Studi di Bari.

La nostra coorte consta, inoltre, di circa 40 soggetti affetti da paralisi periodica (paralisi periodica ipokaliemica, paralisi periodica iperkaliemica e sindrome di Andersen-Tawil) e di circa 40 pazienti affetti da miotonia del canale del sodio. Nuove mutazioni sono state identificate e analizzate con studi funzionali.

Questi studi finora sono stati presentati a congressi internazionali e sono pubblicati su riviste censite.

Nel mese di dicembre 2019 abbiamo sottomesso alla rivista "Frontiers in Neurology" (Impact factor: 2.635) uno studio incentrato su particolari mutazioni del canale del sodio SCN4A, ancora a collaborazione multicentrica, dal titolo "Ile215Thr and Gly241Val Mutations in Domain I of Nav1.4", che ha come autori

Serena Pagliarani, Sabrina Lucchiari, Marina Scarlato, Elisa Redaelli, Anna Modoni, Francesca Magri, Barbara Fossati, Stefano Previtali, Valeria A. Sansone, Marzia Lecchi, Mauro Lo Monaco, Giovanni Meola, Giacomo P. Comi

PATOLOGIE NEUROFTALMOLOGICHE RARE

Sindrome di Miller Fisher che causa oftalmoparesi acuta bilaterale in un paziente affetto da miastenia gravis nota

La comparsa acuta di oftalmoparesi bilaterale può essere causata da patologie che coinvolgono tronco encefalo (infarto, neoplasia, sclerosi multipla, encefalopatia di Wernicke), nervi cranici (meningite tubercolare, sindrome di Guillain Barré o Miller Fisher), seno cavernoso, giunzione neuromuscolare (miastenia gravis, botulismo), muscoli (miosite, mitocondriopatia) e orbita (cellulite, malattia di Graves).

In questo articolo è stato descritto il caso di un paziente di 79 anni, affetto da miastenia gravis, ricoverato presso il nostro reparto per trattare un peggioramento clinico, caratterizzato da diplopia e affaticabilità, esordito alcune settimane dopo un episodio di bronchite e dopo vaccinazione antinfluenzale. La diagnosi di Miastenia Gravis era stata effettuata 8 anni prima con il riscontro di positività degli anticorpi anti-recettore dell'acetilcolina (AChR) e anti-recettore della rianodina; la malattia era stata fino a quel momento in buon controllo clinico con piridostigmina, azatioprina e basse dosi di steroide. In anamnesi era riportata inoltre una lieve polineuropatia assonale sensitivo-motoria cronica conseguente alla chemioterapia per un pregresso carcinoma del colon in follow up negativo.

Durante i primi giorni di degenza, il paziente ha sviluppato un progressivo deficit dei movimenti oculari estrinseci fino alla completa oftalmoplegia, grave atassia della marcia e degli arti superiori e lieve disartria. I riflessi osteotendinei risultavano assenti negli arti inferiori. Dato che tali sintomi non erano giustificabili dalla precedente diagnosi di miastenia gravis, altre possibili eziologie sono state prese in considerazione. La RMN encefalo ha mostrato solo una lieve cerebrovasculopatia cronica senza lesioni acute. L'analisi del liquido cefalorachidiano, comprensiva di studi virologici e della ricerca delle bande oligoclonali, è risultata normale. L'elettromiografia ha evidenziato una multiradiculopatia sensitiva con aumento della latenza del nervo facciale, scomparsa dell'onda F da nervo ulnare e assenza di tutti i potenziali d'azione sensitivi esaminati. La stimolazione ripetitiva non ha mostrato una risposta decrementale. Lo screening neoplastico con marcatori sierici e TC total body con contrasto ha escluso una causa paraneoplastica. Nel sospetto di una sindrome di Miller Fisher il paziente è stato trattato con cicli di plasmaferesi con lento e progressivo miglioramento

clinico e completa risoluzione del quadro dopo 2 mesi. Gli anticorpi anti GQ1b sono risultati marcatamente positivi su siero (titolo 1:2165).

La sindrome di Miller Fisher, rara variante della sindrome di Guillain Barré, è una neuropatia immuno-mediata che si presenta con oftalmoplegia, atassia e areflessia. Sinora solo pochi casi di sindrome di Miller Fisher sono stati descritti in sovrapposizione alla Miastenia Gravis. Questo caso sottolinea quindi l'importanza di prendere in considerazione possibili diagnosi differenziali nel corso della valutazione di pazienti con sintomi acuti su patologie croniche, soprattutto in caso di sintomi atipici. Inoltre, evidenzia la possibilità di coesistenza di due differenti patologie autoimmuni nello stesso paziente.

Brusa R, Faravelli I, Gagliardi D, Magri F, Cogiamanian F, Saccomanno D, Cinnante C, Mauri E, Abati E, Bresolin N, Corti S, Comi GP.

Ophthalmoplegia Due to Miller Fisher Syndrome in a Patient With Myasthenia Gravis.

Front Neurol. 2019 Aug 13;10:823. doi: 10.3389/fneur.2019.00823. eCollection 2019.

SCLEROSI LATERALE AMIOTROFICA

Nuove variazioni molecolari potenzialmente implicabili nella Sclerosi Laterale Amiotrofica

Il decorso clinico della sclerosi laterale amiotrofica (SLA) è generalmente rapido e, poiché la sua patofisiologia non è chiara, sono disponibili pochi trattamenti efficaci. La ricerca genetica mira a comprendere i meccanismi alla base della SLA e ad identificare potenziali bersagli terapeutici. La ricerca di nuovi geni malattia e/o di fattori di rischio nell'ambito delle malattie del motoneurone rappresenta da sempre un'importante filone del nostro gruppo.

Per quanto riguarda l'attività di laboratorio svolta durante il 2019 il nostro gruppo ha collaborato alla realizzazione di uno studio internazionale multicentrico coordinato dal Professor Bryan Traynor; i risultati di questo studio non sono ancora stati pubblicati e attualmente risultano essere stati sottomessi ad un'importante rivista internazionale. I dati ottenuti tramite tecniche di Next Generation Sequencing (NGS) evidenziano come mutazioni in un gene che codifica per un enzima coinvolto nel metabolismo lipidico possano associarsi a casi di sclerosi laterale amiotrofica. Il dato riveste particolare importanza perché aggiunge nuove informazioni nell'ambito della comprensione dell'eziologia genetica della SLA e dei possibili meccanismi molecolari che portano alla morte del motoneurone.

NEUROIMMUNOLOGIA

Il ruolo diagnostico e prognostico dei neurofilamenti su siero e su liquor nella sclerosi laterale amiotrofica: una revisione della letteratura

La sclerosi laterale amiotrofica (SLA) è una malattia neurodegenerativa fatale che colpisce i motoneuroni superiori ed inferiori, a cui manca ancora una terapia efficace. La parziale conoscenza dei meccanismi patogenetici alla base della malattia, il ritardo diagnostico e la mancanza di accurati biomarcatori diagnostici, prognostici e terapeutici sono i principali responsabili del fallimento dei recenti trials terapeutici sulla SLA.

I neurofilamenti sono proteine citoscheletriche specifiche dei neuroni, i cui livelli risultano incrementate nei fluidi biologici in proporzione alla gravità del danno assonale, sia in condizioni normali che patologiche; essi rappresentano potenziali biomarcatori in varie condizioni neurologiche, ad esempio nella malattia del motoneurone. Diversi studi hanno mostrato che i neurofilamenti con catena pesante fosforilata (p-NfH) e i neurofilamenti a catena leggera (NfL) risultano aumentati nel sangue e nel liquido cerebrospinale dei pazienti

affetti da SLA, rispetto ai controlli sani e ad altri controlli neurologici, e la loro concentrazione è correlata con la progressione di malattia.

In questa revisione, abbiamo descritto i risultati degli studi più rilevanti riguardo al ruolo diagnostico e prognostico dei neurofilamenti nella SLA. In considerazione della loro affidabilità e riproducibilità, i neurofilamenti possono essere considerati dei promettenti biomarcatori utili nel processo diagnostico, nell'identificazione precoce dei pazienti per l'inclusione negli studi clinici, nella predizione della progressione della malattia e della risposta all'intervento farmacologico; pertanto ne suggeriamo la validazione nella pratica clinica.

Gagliardi D, Meneri M, Saccomanno D, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

Diagnostic and Prognostic Role of Blood and Cerebrospinal Fluid and Blood Neurofilaments in Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Review of the Literature.

Int J Mol Sci. 2019 Aug 25;20(17). pii: E4152. doi: 10.3390/ijms20174152.

MALATTIE CEREBROVASCOLARI

Analisi molecolari in una coorte di pazienti con angiomas cavernose cerebrali.

Le malformazioni cavernose cerebrali (CCM) o angiomi cavernosi sono difetti vascolari costituiti da agglomerati di capillari sanguigni molto dilatati e fragili. La prevalenza stimata nella popolazione generale è di 0,1-0,5%. Il fenotipo clinico è altamente variabile. Gli angiomi cavernosi si localizzano principalmente nel sistema nervoso centrale dove si presentano come lesioni focali. Gli angiomi cavernosi possono essere clinicamente silenziosi (60%) o portare a cefalea ricorrente, deficit neurologici focali, emorragia cerebrale (41%) e convulsioni (45%). La maggior parte dei casi CCM sono forme sporadiche ma familiari con ereditarietà autosomica dominante. Le mutazioni germinali in tre geni rappresentano il 90% dei casi familiari. I tre geni interessati sono: CCM1 (noto anche come KRIT1), CCM2 e PDCD10 (CCM3). L'analisi dei tessuti colpiti ha spesso rivelato una seconda mutazione somatica, probabilmente necessaria per iniziare la cascata patogenetica, secondo un meccanismo "a due colpi". Le mutazioni del gene CCM1 sono state rilevate in oltre il 40% di casi familiari ma la penetranza incompleta, che non è rara, è riportata nel 60-80% delle famiglie mutate.

Le mutazioni germinali associate alle forme familiari di angiomi cavernosi portano spesso alla perdita della espressione dell'allele che le contiene. Trattandosi di mutazioni puntiformi che interessano siti di splicing o mutazioni troncanti che portano a frameshift nella traduzione proteica o alla formazione di codoni di STOP prematuri, il sequenziamento delle regioni codificanti e delle sequenze introniche limitrofe è una tecnica di elezione per lo screening dei geni coinvolti in questa patologia. Applicando il sequenziamento di Sanger ai geni KRIT1, CCM2 e PDCD10 siamo stati in grado di identificare mutazioni eterozigoti potenzialmente causative in 19 pazienti. Gli effetti di queste varianti a livello del trascritto sono stati confermati mediante lo studio del cDNA retro trascritto da RNA estratto da linfociti. Laddove disponibili i familiari dei probandi con una positività all'analisi neuroradiologica sono stati studiati per la presenza delle varianti candidate che hanno superato il test di segregazione. In 6 pazienti privi di mutazioni puntiformi, l'estensione dello screening molecolare mediante tecnica MLPA è risultata positiva.

Questo studio ha consentito di raggiungere la diagnosi genetica in tutti i pazienti analizzati (n=25). Un sottogruppo di questi pazienti è stato arruolato per lo studio clinico TREAT-CCM finanziato da AIFA per la valutazione del potenziale terapeutico del beta-bloccante Propranololo sulla progressione della malattia valutata mediante outcome neurologici e neuroradiologici.

DISTURBI DEL MOVIMENTO

Caratterizzazione di modelli cellulari privi della nucleoporina Aladina, responsabile della Sindrome di Allgrove

La sindrome di Allgrove, anche conosciuta come la sindrome della tripla A, è una malattia ereditaria autosomica recessiva causata dalla mutazione del gene AAAS. Le caratteristiche principali di questa sindrome sono acalasia (patologia motoria esofagea), alacrimia (difficoltà o inabilità nel produrre lacrime) e malattia di Addison (insufficienza corticosurrenale cronica); la maggior parte dei pazienti affetti da questa sindrome presenta tutti e tre i sintomi ma, in alcuni casi, il quadro sintomatologico può variare e presentarsi con solo una o due caratteristiche o, addirittura, con sintomi aggiuntivi quali riflesso pupillare anormale, bradicardia e ipotensione ortostatica. Gli individui affetti, inoltre, possono presentare anche disturbi nello sviluppo, ritardo mentale, microcefalia, problemi con il linguaggio, debolezza muscolare, problemi motori, neuropatia periferica e atrofia ottica.

Molti dei sintomi elencati sono causati da una generale disfunzione del sistema nervoso autonomo il quale controlla i processi involontari quali la digestione, la pressione sanguigna e la temperatura corporea.

I pazienti affetti dalla sindrome di Allgrove spesso vedono un peggioramento dei loro sintomi che, in età adulta, possono portare a una quasi totale degenerazione del sistema nervoso che causa anche patologie quali il morbo di Parkinson.

La sindrome di Allgrove è causata dalla mutazione del gene AAAS contenuto nel cromosoma 12q13; questo gene codifica per una proteina chiamata ALADIN (ALacrima Achalasia aDrenal Insufficiency Neurologic disorder) contenuta nei pori nucleari. Questa proteina di 60 kDa è coinvolta nel movimento molecolare all'interno e all'esterno del nucleo.

In questo studio abbiamo esplorato gli aspetti biochimici e molecolari della perdita di Aladina nei fibroblasti e nei tessuti di un paziente morto per sindrome di Allgrove che avevamo in precedenza diagnosticato. Gli studi condotti hanno chiarito per la prima volta la localizzazione di Aladina a livello del sistema nervoso centrale documentando una marcata perdita dei motoneuroni e delle cellule di Purkinje. Gli studi *in vitro* hanno invece chiarito la localizzazione subcellulare nel nucleo e lasciano suggerire un ruolo dell'Aladina nei meccanismi di scambio di RNA tra nucleo e citosol.

A supporto di questa ipotesi, le 49 mutazioni finora identificate come causative della sindrome di Allgrove, causano un cambiamento nella struttura della proteina in diversi modi ma, ognuno di questi, sembra impedire l'entrata nella membrana nucleare della proteina mutata con conseguente perdita di funzione.

Bitetto G, Ronchi D, Bonato S, Pittaro A, Compagnoni GM, Bordoni A, Salani S, Frattini E, Lopez G, Cribiù FM, Corti S, Comi GP, Bresolin N, Di Fonzo A.

Loss of the nucleoporin Aladin in central nervous system and fibroblasts of Allgrove Syndrome.

Hum Mol Genet. 2019 Oct 10. pii: ddz236. doi: 10.1093/hmg/ddz236.

Atassia e neuropatia in un nuovo caso familiare associato a mutazioni nella Neurofascina

La proteina Neurofascina, codificata da NFASC, è una proteina a localizzazione transmembrana che ha un ruolo essenziale nello sviluppo del sistema nervoso centrale e nella funzione dei nodi di Ranvier. Autoanticorpi diretti contro questa proteina causano una polineuropatia infiammatoria cronica spesso caratterizzata da atassia cerebellare e tremore. Mutazioni nel gene NFASC sono state recentemente associate a malattia del neurosviluppo in due famiglie.

In questo studio abbiamo combinato l'analisi di linkage e l'esoma per risolvere un piccolo caso familiare che riguarda due fratelli consanguinei affetti da una forma di atassia cerebellare ad esordio precoci e segni di neuropatia demielinizzante. Le analisi molecolari hanno identificato la mutazione V1122E nella proteina Neurofascina. Il cambio amminoacidico interessa un dominio idrofobico trans-membrana altamente conservato. Abbiamo anche generato neuroni da cellule iPS ottenute dai pazienti e verificato come la presenza della mutazione finisse per compromettere la stabilità della proteina. Questo studio allarga lo spettro di mutazioni associate a questo gene ma sottolinea anche il ruolo della neurofascina nel mantenimento dei nodi di Ranvier, la cui fisiologia è attualmente oggetto di molti programmi di studio traslazionale per la diagnosi e la cura delle "nodopatie".

Monfrini E, Straniero L, Bonato S, Monzio Compagnoni G, Bordoni A, Dilella R, Rinchetti P, Silipigni R, Ronchi D, Corti S, Comi GP, Bresolin N, Duga S, Di Fonzo A.

Neurofascin (NFASC) gene mutation causes autosomal recessive ataxia with demyelinating neuropathy.

Parkinsonism Relat Disord. 2019 Jun;63:66-72. doi:10.1016/j.parkreldis.2019.02.045.

SPERIMENTAZIONI CLINICHE NELLE PATOLOGIE NEUROMUSCOLARI

La ricerca scientifica per la cura delle malattie neuromuscolari viene condotta dal gruppo afferente al Laboratorio di Biochimica e Genetica del Centro Dino Ferrari anche a livello clinico tramite la partecipazione alle sperimentazioni cliniche vigenti, con uno specifico interesse per le distrofie come la Distrofia Muscolare di Duchenne (DMD) e la Distrofia Muscolare di Becker (BMD) e per l'Amiotrofia Spinale muscolare (SMA).

Le sperimentazioni svolte nel corso del 2019 includono:

1. PTC124-GD-025o-DMD Long term observational study of Translarna Safety and effectiveness in Usual Care.
2. DSC/14/2357/48 "Randomised, Double Blind, Placebo Controlled, Multicentre Study to Evaluate the Efficacy and Safety of Givinstat in Ambulant Patients With Duchenne Muscular Dystrophy"
3. DSC/14/2357/51 "Open label, long-term safety, tolerability, and efficacy study of GIVINOSTAT in all DMD patients who have been previously treated in one of the GIVINOSTAT studies"
4. DSC/15/2357/53 "A randomised, double blind, placebo-controlled study to evaluate the micro-macroscopic effects on muscles, the safety and tolerability, and the efficacy of givinstat in patients with Becker Muscular Dystrophy"
5. BP39056 "A Two Part Seamless, Open-label, Multicenter Study to Investigate the Safety, Tolerability, Pharmacokinetics, Pharmacodynamics and Efficacy of RO7034067 in Infants With Type 1 Spinal Muscular Atrophy"
6. BP39055 "A Two-Part Seamless, Multi-Center Randomized, Placebo-Controlled, Double-blind Study to Investigate the Safety, Tolerability, Pharmacokinetics, Pharmacodynamics and Efficacy of RO7034067 in Type 2 and 3 Spinal Muscular Atrophy Patients"
7. BP39054 "An open label study to investigate the safety, tolerability, and pharmacokinetics/ Pharmacodynamics of RO7034067 in adult and pediatric patients with spinal muscular atrophy"
8. European, Phase 3, Open-Label, Single-Arm, Single-Dose Gene Replacement Therapy Clinical Trial for Patients With Spinal Muscular Atrophy Type 1 With One or Two SMN2 Copies Delivering AVXS-101 by Intravenous Infusion

9. EFC14028 “A Phase 3 randomized, multicenter, multinational, double-blinded study comparing the efficacy and safety of repeated biweekly infusions of neoGAA (GZ402666) and alglucosidase alfa in treatment naïve patients with late onset Pompe disease”
10. SPK-GAA-100 “A Multicenter, Low Interventional Study with a Retrospective Component in Participants with Late Onset Pompe Disease”

Distrofia Muscolare di Duchenne

Diverse sono le mutazioni patogenetiche per la Distrofia muscolare di Duchenne, e alcune terapie approvate o in corso di studio presentano un meccanismo d'azione mutazione-specifico. Per il gruppo di pazienti affetti da Distrofia Muscolare di Duchenne portatori di una mutazione non senso, è stata autorizzata da AIFA la prescrizione e la vendita del farmaco Ataluren (PTC). Questa molecola è in grado di promuovere il *reading through* di mutazioni responsabili di stop codon prematuri ed è stato dimostrato che l'assunzione della molecola è in grado di produrre un rallentamento nella progressione della patologia. Gli 8 pazienti seguiti presso il nostro centro e che hanno partecipato alle sperimentazioni internazionali di fase 2 e fase 3 promosse da PTC per valutare sicurezza ed efficacia di Ataluren, sono attualmente arruolati nello studio osservazionale a lungo termine volto a monitorare sicurezza ed efficacia del farmaco (PTC124-GD-025o-DMD).

Fra i pazienti con DMD seguiti presso il nostro centro, 7 ragazzi stanno partecipando agli studi internazionali (DSC/14/2357/48 e DSC/14/2357/51) finalizzati a verificare sicurezza ed efficacia di Givinostat, un inibitore dell'istone deacetilasi, la cui assunzione cronica è stata dimostrata essere in grado di modificare i processi degenerativi del muscolo. La biopsia muscolare eseguita ad un anno di distanza dall'inizio dell'assunzione del farmaco aveva infatti dimostrato un aumento del calibro fibrale e una riduzione della quota di sostituzione fibro adiposa rispetto all'atteso nei pazienti arruolati nello studio DSC/11/2357/43 (“A Two-Part Study to Assess the Safety and Tolerability, Pharmacokinetics, and Effects on Histology and Different Clinical Parameters of Givinostat in Ambulant Children with Duchenne Muscular Dystrophy”).

Distrofia Muscolare di Becker (BMD)

Le distrofie muscolari di Duchenne e di Becker sono entrambe dovute a mutazioni nel gene della distrofina in grado di produrre assenza (nel caso dei Duchenne) o alterata funzione (nel caso dei Becker) della proteina distrofina, seguita da processi di degenerazione fibroadiposa del muscolo. Il nostro gruppo di ricerca ha partecipato alla redazione di un progetto per condurre una sperimentazione clinica volta a testare sicurezza ed efficacia della molecola Givinostat in un corte di pazienti con BMD.

Tale progetto è stato approvato e finanziato da Regione Lombardia.

Si tratta di uno studio di fase due in doppio cieco, farmaco contro placebo, che prevede la partecipazione di un gruppo di 50 pazienti affetti da BMD deambulanti che verranno trattati con il farmaco sperimentale per 12 mesi, valutati con prove funzionali e sottoposti a studi morfologici biotici (biopsia muscolare) e radiologici (RMN muscolare). Presso il nostro centro sono stati finora valutati 61 pazienti e arruolati 47 pazienti.

Atrofia Muscolare Spinale

Negli ultimi anni si è ampliata la gamma di molecole in corso di sperimentazione per il trattamento della atrofia muscolare spinale.

In seguito ad approvazione AIFA del 2017, il nostro Centro, in quanto riferimento per la gestione delle Malattie Rare, si occupa della prescrizione e somministrazione intratecale dell'oligonucleotide antisense Nusinersen (Spinraza) e delle valutazioni cliniche e funzionali

motorie dei pazienti trattati. Afferiscono alla nostra unità operativa 3 pazienti adulti affetti da SMA di tipo III e 1 paziente pediatrico affetto da SMA di tipo III.

Sono invece in corso presso il nostro centro le sperimentazioni cliniche con la molecola RO7034067, la cui sicurezza ed efficacia sono al vaglio di uno studio in aperto per pazienti affetti da SMA di tipo I (BP39056 “A Two Part Seamless, Open-label, Multicenter Study to Investigate the Safety, Tolerability, Pharmacokinetics, Pharmacodynamics and Efficacy of RO7034067 in Infants With Type 1 Spinal Muscular Atrophy”) e di uno studio randomizzato placebo-controllo per pazienti affetti da SMA di tipi II e III (BP39055 “A Two-Part Seamless, Multi-Center Randomized, Placebo-Controlled, Double-blind Study to Investigate the Safety, Tolerability, Pharmacokinetics, Pharmacodynamics and Efficacy of RO7034067 in Type 2 and 3 Spinal Muscular Atrophy Patients”). Nel primo studio sono stati arruolati 2 pazienti mentre nel secondo 4 pazienti.

Il nostro Centro è risultato inoltre idoneo per la partecipazione ad un terzo studio che vede la somministrazione della molecola RO7034067 nei pazienti che hanno precedentemente partecipato al programma BN29854, nel quale veniva valutata l'efficacia di Olesoxime (“OLEOS multicenter, open-label, single arm study to evaluate long-term safety, tolerability and effectiveness of 10 mg/kg olexosime in patients with SMA”) o che hanno assunto la dose di carico di Nusinersen (Spinraza). I pazienti attualmente arruolati sono 13.

Di grande interesse scientifico e clinico per il suo carattere innovativo è l'inizio della sperimentazione clinica con terapia genica per pazienti affetti da Atrofia Muscolare Spinale di tipo I (European, Phase 3, Open-Label, Single-Arm, Single-Dose Gene Replacement Therapy Clinical Trial for Patients With Spinal Muscular Atrophy Type 1 With One or Two SMN2 Copies Delivering AVXS-101 by Intravenous Infusion). I pazienti arruolabili sono infanti, che non abbiano ancora compiuto il 180° giorno di vita, con una diagnosi genetica confermata e portatori di al massimo 2 copie di SMN2. La terapia consiste in un'unica infusione endovenosa di un vettore virale non patogeno (un adenovirus associato AAV9) clonato per veicolare il gene sano SMN1. Presso il nostro Centro sono stati arruolati e trattati 4 pazienti e come da protocollo di studio sono stati inseriti in un programma di visite mensili durante le quali vengono rivalutati dal punto di vista clinico-neurologico e funzionale-motorio.

Malattia di Pompe ad esordio tardivo

La glicogenosi di tipo II o malattia di Pompe ad esordio tardivo (LOPD) è una patologia neuromuscolare dovuta mutazione nel gene *GAA* codificante per l'enzima maltasi acida. Questo porta ad accumulo di glicogeno a livello tissutale ed è responsabile di un quadro di debolezza muscolare a livello della muscolatura assiale e prossimale, insufficienza respiratoria, facile affaticabilità e mialgie. La terapia di questa forma di glicogenosi si basa attualmente su presidi dietetici, terapia fisica e terapia infusione endovenosa con enzima ricombinante sostitutivo (Myozyme, alfa glucosidasi acida) a dosaggio di 20 mg/kg ogni 2 settimane. Tale terapia (ERT) presenta una risposta subottimale e limitazioni dovute alla scarsa biodisponibilità dell'enzima.

Lo studio EFC14028 si propone di valutare, con una fase in doppio cieco con terapia standard e una in aperto, l'efficacia e la sicurezza di una nuova terapia enzimatica sostitutiva (neoGAA o alglucosidasi alfa) in pazienti con LOPD e mai trattati con Myozyme. Attualmente 2 pazienti proseguono in questo studio che prevede infusioni quindicinali, esami ematochimici mensili e prove funzionali trimestrali.

Lo studio SPK-GAA-100 si propone di ottenere informazioni cliniche e dosare i livelli di anticorpi contro l'enzima *GAA* in previsione di una futura terapia genica con virus adeno-associato (AAV). Attualmente è stato arruolato un paziente.

LABORATORIO CELLULE STAMINALI NEURALI

RESPONSABILE:

Prof.ssa Stefania Corti

MEDICI:

Dott. Irene Favarelli

Dott. Alessandra Govoni

Dott. Delia Gagliardi

Dott. Elena Abati

Dott. Gianluca Costamagna

BIOLOGI:

Dott. Sabrina Salani

Dott. Federica Rizzo

Dott. Valeria Parente

Dotr. Roberta De Gioia

Biotechnologi

Dott. Monica Nizzardo

Dott. Paola Rinchetti

Dott. Mafalda Rizzuti

Dott. Michela Taiana

Dott. Valentina Melzi

Dott. Margherita Bersani

Dott. Noemi Galli

Dott. Fabio Biella

Dott. Elisa Pagliari

L'attività di ricerca del Laboratorio di Cellule Staminali Neurali è dedicata allo studio dei meccanismi patogenetici e allo sviluppo di strategie terapeutiche cellulari e molecolari per le malattie del motoneurone, neurodegenerative e neuromuscolari. In particolare le patologie oggetto di studio sono l'Atrofia Muscolare Spinale (SMA), l'Atrofia Muscolare Spinale con Distress Respiratorio (SMARD1), entrambe ad esordio infantile, la Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA), ad esordio adulto, e le neuropatie ereditarie come la Malattia di Charcot-Marie-Tooth di tipo 2A (CMT2A). I meccanismi molecolari delle patologie e le potenzialità terapeutiche delle nuove strategie sviluppate sono valutati *in vitro* in modelli cellulari derivati da cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC) che si ottengono dalla riprogrammazione di cellule somatiche adulte e che quindi offrono la possibilità di essere utilizzate come modelli cellulari paziente specifici. Le iPSC inoltre sono impiegate anche come sorgente cellulare per strategie di tipo cellulo-mediato che vede nel trapianto di cellule staminali un possibile approccio terapeutico per le malattie neurodegenerative come le malattie del motoneurone, sia attraverso la sostituzione cellulare che con meccanismi di tipo neuroprotettivo. Nel nostro laboratorio sono inoltre studiate strategie di terapia genica che prevedono l'utilizzo di vettori adeno-associati (AAV) e di terapia molecolare con oligonucleotidi antisenso in particolare con chimica morfolino.

Sono qui presentati in sintesi i risultati ottenuti dalle nostre ricerche nel 2019.

Atrofia Muscolare Spinale con Distress Respiratorio di tipo 1: fenotipi clinici, patogenesi molecolare e approfondimenti terapeutici. (Saladini et al., 2019)

L'Atrofia Muscolare Spinale con Distress Respiratorio di tipo 1 (SMARD1) è una malattia neuromuscolare rara autosomica recessiva causata da mutazioni del gene IGHMBP2, che codifica per la proteina legante le immunoglobuline μ 2, con conseguente degenerazione progressiva dei motoneuroni spinali. In questo lavoro abbiamo revisionato i dati disponibili in letteratura sulla SMARD1. La maggioranza dei pazienti inizia a mostrare i sintomi tipici durante il primo anno di vita. Le principali caratteristiche cliniche sono l'atrofia muscolare distale e la paralisi diaframmatica, per la quale è necessaria una ventilazione di supporto permanente. Non è ancora disponibile un trattamento efficace, ma nuovi approcci terapeutici, come la terapia genica, hanno mostrato risultati incoraggianti in contesti preclinici e rappresentano quindi delle possibili strategie terapeutiche per il trattamento di questa patologia. I significativi progressi nella comprensione dello spettro clinico e dei meccanismi molecolari della SMARD1 consentiranno la traslazione delle strategie terapeutiche studiate a livello preclinico nei pazienti, con l'obiettivo finale di migliorare la prognosi sfavorevole di questa devastante malattia.

Saladini M, Nizzardo M, Govoni A, Taiana M, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

Spinal muscular atrophy with respiratory distress type 1: Clinical phenotypes, molecular pathogenesis and therapeutic insights.

J Cell Mol Med. 2019 Dec 4. doi: 10.1111/jcmm.14874. [Epub ahead of print]. PubMed PMID: 31802621. IF: 4.658

Il trapianto intratecale di una sottopopolazione di cellule staminali neurali derivata da iPSC migliora il fenotipo della malattia in un modello murino di Atrofia Muscolare Spinale con Distress Respiratorio di tipo 1. (Forotti et al., 2019)

L'Atrofia Muscolare Spinale con Distress Respiratorio di tipo 1 (SMARD1) è una malattia genetica dei motoneuroni che colpisce prevalentemente i neonati. Questa condizione è causata da mutazioni nel gene IGHMBP2 e attualmente non ha una cura. Il trapianto di cellule staminali rappresenta una potenziale strategia terapeutica per le malattie del motoneurone come la SMARD1, esercitando effetti benefici sia sostituendo le cellule sia fornendo supporto ai motoneuroni endogeni. In questo lavoro, dimostriamo che le cellule staminali neurali

(NSC) umane derivate da cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC), selezionate per l'espressione di marcatori specifici, come Lewis X, CXCR4 e beta 1 integrina, e pretrattate con fattori neurotrofici e inibitori di apoptosi e necroptosi, sono state in grado di migrare efficacemente e di innestarsi nel parenchima dell'ospite dopo la somministrazione nel liquido cefalorachidiano in un modello murino di SMARD1. Siamo stati in grado di rilevare le cellule trapiantate nelle corna ventrali del midollo spinale e osservare miglioramenti nelle caratteristiche neuropatologiche, in particolare una preservazione dell'integrità dell'unità motoria, fortemente correlata con il miglioramento del fenotipo della malattia in termini di funzione neuromuscolare e durata della vita. Questo approccio con cellule staminali è minimamente invasivo e può apportare importanti vantaggi nell'ambito della terapia cellulare per i pazienti con malattie neurodegenerative.

Forotti G, Nizzardo M, Bucchia M, Ramirez A, Trombetta E, Gatti S, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

CSF transplantation of a specific iPSC-derived neural stem cell subpopulation ameliorates the disease phenotype in a mouse model of spinal muscular atrophy with respiratory distress type 1. **Exp Neurol.** 2019 Nov;321:113041. doi: 10.1016/j.expneurol.2019.113041. Epub 2019 Aug 21. PubMed PMID: 31445043. IF: 4.483

Ruolo chiave di SMN/SYNCRIP e RNA-Motif 7 nella SMA: Analisi di RNASeq e dei motivi nei motoneuroni umani. (Rizzo et al., 2019)

L'Atrofia Spinale Muscolare (SMA) è una malattia del motoneurone (MN) causata da mutazioni nel gene *SMN1*. Nonostante alla fine del 2016 sia stato reso disponibile il primo farmaco approvato per la SMA, Nusinersen, non è ancora stabilita in modo conclusivo la sua efficacia in tutti i tipi di pazienti. Per migliorare la strategia terapeutica è necessaria una migliore comprensione dei meccanismi molecolari alla base della patologia, in particolare individuare le ragioni per la selettiva vulnerabilità dei MN aspetto che rimane ad oggi ancora poco chiaro. Di conseguenza, abbiamo condotto un particolare tipo di sequenziamento dell'RNA su MN umani derivati da pazienti SMA e controlli per individuare specifiche alterazioni di espressione genica o di splicing e per identificare la presenza di motivi comuni ai geni deregolati. Molti geni che sono risultati essere deregolati, come quelli appartenenti alla famiglia delle Neurexine o delle Sinaptotagmine, sono implicati in funzioni essenziali dei motoneuroni. Le analisi bioinformatiche dei geni deregolati, tra cui la Neurexina2 (*NRXN2*), hanno evidenziato la presenza di un motivo comune, il motivo 7, che è target di SYNCRIP. SYNCRIP è una RNA Binding Protein (RBP) che è stata descritta interagire con la forma completa di SMN e non con le forme mutate o tronche identificate nella SMA. SYNCRIP inoltre lega e modula diversi trascritti specifici dei MN, tra cui SMN stesso. Abbiamo dimostrato che l'aumento di espressione di SYNCRIP migliora il fenotipo patologico nei MN SMA in termini di sopravvivenza e crescita assonale, a seguito di un incremento di espressione di SMN e della NRXN2, il loro target a valle, grazie alla presenza di un loop positivo tra queste tre proteine. Inoltre l'overespressione di SYNCRIP determina miglioramenti dei fenotipi patologici correlati alla perdita di SMN nel modello SMA di *C. elegans* e nel modello murino *SMNΔ7*. Il complesso SMN/SYNCRIP attraverso il motivo 7 potrebbe spiegare la selettiva degenerazione dei MN e rappresentare un potenziale bersaglio terapeutico.

Rizzo F, Nizzardo M, Vashisht S, Molteni E, Melzi V, Taiana M, Salani S, Santonicola P, Di Schiavi E, Bucchia M, Bordoni A, Faravelli I, Bresolin N, Comi GP, Pozzoli U, Corti S.

Key role of SMN/SYNCRIP and RNA-Motif 7 in spinal muscular atrophy: RNA-Seq and motif analysis of human motor neurons.

Brain. 2019 Feb 1;142(2):276-294. doi: 10.1093/brain/awy330. Erratum in: *Brain*. 2019 May 1;142(5):e20. PubMed PMID: 30649277; PubMed Central PMCID: PMC6351774. IF: 11.814

Mieloradiculite da herpes simplex di tipo 2 con presentazione puramente motoria in un paziente con trapianto di fegato. (Abati et al., 2019)

In questo case report è descritto il primo caso confermato alla PCR di mieloradiculite da HSV2, o sindrome di Elsberg, con presentazione puramente motoria, in un paziente di 68 anni sottoposto a trapianto di fegato. Il paziente ha presentato paralisi ascendente in assenza di interessamento sensitivo e/o sfinterico, pertanto mimando la sintomatologia della poliradicolonevrite infiammatoria acuta, o sindrome di Guillain-Barrè. Il virus HSV2 è stato riscontrato tramite PCR nel liquido cerebrospinale, e il paziente è stato trattato con Acyclovir endovena con buon recupero clinico.

Abati E, Gagliardi D, Velardo D, Meneri M, Conte G, Cinnante C, Bresolin N, Comi G, Corti S. *Herpes Simplex virus type 2 myeloradiculitis with a pure motor presentation in a liver transplant recipient.*

Transpl Infect Dis. 2019 Dec 23:e13236. doi: 10.1111/tid.13236. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 31868290. IF: 2.112

Sistemi neurali 3D basati su iPSCs: un approccio multidimensionale per lo studio delle malattie e per la scoperta di nuovi farmaci. (Costamagna et al., 2019)

Sono stati sviluppati negli anni diversi protocolli bidimensionali (2D) basati sull'utilizzo di cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC), che hanno fornito preziose informazioni sulla fisiopatologia delle malattie neurologiche. Tuttavia, questi sistemi non sono in grado di riprodurre le complesse caratteristiche citoarchitetture, le interazioni cellula-cellula e tessuto-tessuto che sono caratteristiche della loro controparte in vivo. I recenti protocolli di cultura tridimensionali (3D), sebbene ancora preliminari, hanno offerto nuove intuizioni sul modelling delle malattie umane. Gli organoidi neurali umani sono in grado di ricapitolare la diversità cellulare di tessuti complessi e possono essere generati a partire da iPSC per modellare la fisiopatologia di un ampio spettro di patologie. Il trapianto di iPSC nei modelli murini e il miglioramento dei protocolli di differenziamento delle culture 3D ha permesso la generazione di sistemi multicellulari più complessi. Di conseguenza, modelli di disturbi neuropsichiatrici, di malattie infettive e neoplastiche e di lesioni cerebrali ipossiche possono ora essere studiati da nuove prospettive. In questo lavoro, abbiamo considerato i progressi fatti nel modelling delle patologie neuropsichiatriche e neurologiche tramite organoidi derivati dalle iPSC e il loro potenziale utilizzo per sviluppare nuovi farmaci.

Costamagna G, Andreoli L, Corti S, Faravelli I.

iPSCs-Based Neural 3D Systems: A Multidimensional Approach for Disease Modeling and Drug Discovery.

Cells. 2019 Nov 14;8(11). pii: E1438. doi: 10.3390/cells8111438. PubMed PMID: 31739555; PubMed Central PMCID: PMC6912470. IF: 4.829

Oftalmoplegia dovuta alla sindrome di Miller Fisher in un paziente con miastenia grave. (Brusa et al., 2019)

In questo lavoro abbiamo descritto un paziente 79-enne maschio accettato presso la nostra unità operativa a causa dell'aggravarsi di diplopia ed affaticamento iniziati alcune settimane dopo un episodio di bronchite e vaccinazione contro l'influenza. La storia medica pregressa include Miastenia Gravis (MG), tenuta sotto controllo con Piridostigmina, Azotipirina, e Prednisone. Durante i primi giorni il paziente ha sviluppato anomalie progressive dei

movimenti oculari fino alla completa oftalmoplegia esterna, severa atassia degli arti e dell'andatura e lieve disartria. I riflessi tendinei profondi erano assenti negli arti inferiori. Dato che non tutti i sintomi erano spiegabili con la precedente diagnosi di miastenia gravis, sono state investigate altre cause patologiche. La MRI dell'encefalo e l'analisi del liquor risultavano normali. L'elettromiografia mostrava un quadro predominante di severa radiculoneurite sensoriale multipla. Sospettando una Sindrome di Miller-Fisher (MFS), il paziente è stato trattato con plasmaferesi con conseguente miglioramento clinico. Sono stati riscontrati anticorpi reattivi contro GQ1. La MFS è una neuropatia immunomediata che si presenta con oftalmoplegia, atassia e ariflessia. Anche se attualmente sono stati descritti solo pochi casi in cui la MFS si sovrappone alla MG, può esistere comunque la coesistenza di due differenti disordini autoimmuni. La valutazione delle possibili diagnosi differenziali rimane sempre importante, anche in caso di malattie compatibili con le sintomatologie note, specialmente quando le caratteristiche cliniche sono atipiche.

Brusa R, Faravelli I, Gagliardi D, Magri F, Cogiamanian F, Saccomanno D, Cinnante C, Mauri E, Abati E, Bresolin N, Corti S, Comi GP.

Ophthalmoplegia Due to Miller Fisher Syndrome in a Patient With Myasthenia Gravis.

Front Neurol. 2019 Aug 13;10:823. doi: 10.3389/fneur.2019.00823. eCollection 2019. PubMed PMID: 31456730; PubMed Central PMCID: PMC6700242. IF: 2.635

Ruolo diagnostico e prognostico del Neurofilamento nel sangue e nei fluidi cerebrospinali nella Sclerosi Laterale Amiotrofica: una revisione della letteratura. (Gagliardi et al., 2019)

La Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA) è una malattia neurodegenerativa fatale che colpisce sia i motoneuroni superiori che inferiori (MN) e per la quale ancora manca una terapia efficace. Il fallimento dei trial clinici per la SLA, oltre a dipendere dalla scarsa conoscenza dei meccanismi patogenici della perdita di neuroni, è principalmente causato dal ritardo nella diagnosi e dalla mancanza di marcatori prognostici, diagnostici e indicatori della risposta all'intervento farmacologico. I Neurofilamenti (Nf) sono proteine citoscheletriche neuronali specifiche i cui livelli aumentano nei fluidi biologici in proporzione al danno assonale, sia in condizioni normali che patologiche. Il Nf rappresenta infatti un potenziale biomarcatore in molti disordini neurologici tra cui le malattie del motoneurone (NMD). Un numero crescente di evidenze ha mostrato che la forma fosforilata della catena pesante del neurofilamento (p-NfH) e la catena leggera del neurofilamento (NfL) aumentano nel sangue e nel fluido cerebrospinale di pazienti SLA rispetto a soggetti sani e controlli neurologici; inoltre correlano con la progressione della patologia. In questa review riportiamo gli studi più rilevanti che investigano il ruolo diagnostico e prognostico dei Nf nella SLA. Data la sua affidabilità e riproducibilità possiamo considerare il Nf come un promettente ed utile biomarcatore per la diagnosi, l'identificazione precoce dei pazienti per l'inclusione in trial clinici, la predizione del progresso della malattia e la risposta all'intervento farmacologico. Inoltre suggeriamo la validazione della sua misurazione nella pratica clinica.

Gagliardi D, Meneri M, Saccomanno D, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

Diagnostic and Prognostic Role of Blood and Cerebrospinal Fluid and Blood Neurofilaments in Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Review of the Literature.

Int J Mol Sci. 2019 Aug 25;20(17). pii: E4152. doi: 10.3390/ijms20174152. PubMed PMID: 31450699; PubMed Central PMCID: PMC6747516. IF: 4.183

Progressi, sfide e prospettive nella terapia traslazionale delle cellule staminali per la Sclerosi Laterale Amiotrofica. (Abati et al., 2019)

Attualmente, trovare un approccio terapeutico efficace rappresenta il goal primario per la Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA), una malattia neurologica fatale caratterizzata dalla degenerazione e perdita dei motoneuroni di primo e secondo ordine. Approcci basati sul trapianto di cellule staminali sono stati indagati e testati in virtù della loro potenziale efficacia nel contrastare diversi aspetti patogenetici della SLA in contemporanea, sostituendo i neuroni danneggiati e fornendo una protezione dal microambiente pro-infiammatorio. In questo lavoro, vengono revisionati in maniera critica gli studi traslazionali effettuati finora con lo scopo di valutare la sicurezza ed efficacia del trapianto di cellule staminali nella SLA. La maggior parte di questi studi mira ad ottenere un effetto neuroprotettivo, anziché sostituire direttamente le cellule perse. Gli aspetti critici che emergono da queste ricerche sono la necessità di identificare le sorgenti più efficienti di pool cellulari (cellule staminali mesenchimali, immunitarie o neurali), la definizione di un sito ottimale di iniezione (locale o sistemica), e l'analisi dei meccanismi terapeutici, che sono step necessari al fine di superare le sfide sollevate dai precedenti trials umani. Nuove prospettive vengono inoltre offerte dal numero sempre crescente di terapie basate su cellule staminali pluripotenti indotte (iPSCs), che stanno iniziando a entrare nella fase di sperimentazione clinica. Un'analisi approfondita dei trials completati di recente costituisce le necessarie fondamenta per un continuo progresso nella terapia cellulare della SLA e delle altre patologie neurodegenerative.

Abati E, Bresolin N, Comi G, Corti S.

Advances, Challenges, and Perspectives in Translational Stem Cell Therapy for Amyotrophic Lateral Sclerosis.

Mol Neurobiol. 2019 Oct;56(10):6703-6715. doi: 10.1007/s12035-019-1554-x. Epub 2019 Mar 26. Review. PubMed PMID: 30911936. IF: 4.586

Modeling della malattia e strategie terapeutiche nella CMT2A: stato dell'arte. (Barbullushi et al., 2019)

La Mitofusina 2 (MFN2) è una proteina della membrana mitocondriale esterna che appartiene ad una famiglia di GTPasi altamente conservate. Essa è implicata in diversi pathways intracellulari, tuttavia il suo ruolo principale è la regolazione della dinamica mitocondriale, in particolare della fusione mitocondriale. Le mutazioni di MFN2 sono associate alla malattia di Charcot-Marie-Tooth di tipo 2A (CMT2A), una patologia neurologica caratterizzata da un ampio spettro di manifestazioni cliniche, e in particolare da neuropatia assonale sensitivo-motoria. I meccanismi cellulari e molecolari attraverso cui la MFN2 causa la degenerazione assonale sono in larga parte sconosciuti, e attualmente non esiste una terapia. In questa review, vengono discussi i più recenti modelli in vitro e in vivo di CMT2A e gli approcci terapeutici più promettenti che si trovano attualmente in fase di sviluppo. Tali modelli e tali terapie potrebbero rivelarsi strumenti altamente rilevanti per lo studio e il trattamento delle dinamiche mitocondriali alterate, che sembrano giocare un ruolo significativo nella patogenesi della CMT2A e di altre patologie neurodegenerative più comuni.

Barbullushi K, Abati E, Rizzo F, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

Disease Modeling and Therapeutic Strategies in CMT2A: State of the Art.

Mol Neurobiol. 2019 Sep;56(9):6460-6471. doi: 10.1007/s12035-019-1533-2. Epub 2019 Mar 4. PubMed PMID: 30830587. IF: 4.586

I microRNAs come regolatori dei meccanismi di morte cellulare nella Sclerosi Laterale Amiotrofica (Gagliardi et al., 2019)

La Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA) è una patologia neurodegenerativa progressiva che colpisce i motoneuroni superiori ed inferiori, con conseguente paralisi e morte precoce per insufficienza respiratoria. Sebbene le cause della SLA non siano state completamente comprese, il ruolo delle alterazioni nel metabolismo dell'RNA sembra centrale. I microRNA (miRNA) sono RNA non codificanti implicati nella regolazione dell'espressione genica di molti processi fisiologici rilevanti, inclusa la morte cellulare. Il modello di morte cellulare programmata (PCD), recentemente sviluppato, comprende diversi meccanismi, dall'apoptosi alla necrosi regolata (RN), in particolare la necroptosi. Sia l'apoptosi che la necroptosi giocano un ruolo significativo nella progressiva morte dei MN nella SLA. In questa review, abbiamo raccolto le ricerche chiave riguardanti la modulazione dell'apoptosi e della via RN nella SLA da parte dei miRNA. Abbiamo anche discusso della possibilità che i miRNA rappresentino potenziali bersagli per lo sviluppo di terapie nei pazienti.

Gagliardi D, Comi GP, Bresolin N, Corti S.

MicroRNAs as regulators of cell death mechanisms in amyotrophic lateral sclerosis.

J Cell Mol Med. 2019 Mar;23(3):1647-1656. doi: 10.1111/jcmm.13976. Epub 2019 Jan 4. PubMed PMID: 30614179; PubMed Central PMCID: PMC6378226. IF: 4.658

R-Loops nelle malattie del motoneurone. (Perego et al., 2019)

Gli R-Loops sono strutture transitorie di acidi nucleici a tre filamenti che si formano fisiologicamente durante la trascrizione quando un trascritto di RNA nascente ibridizza con il filamento di DNA template, lasciando un singolo filamento di DNA non-template spostato. Tuttavia, l'aberrante persistenza degli R-Loops può causare danni al DNA inducendo instabilità genomica. In effetti, è emerso che gli R-Loops possono rappresentare un elemento chiave nella patogenesi delle malattie umane, tra cui il cancro, la neurodegenerazione e le malattie del motoneurone. Le mutazioni nei geni direttamente coinvolti nella biologia degli R-Loops, come SETX (senataxina), o l'espansione instabile del DNA che induce la generazione degli R-Loops, come C9ORF72 HRE, possono causare danni al DNA e portare alla morte i motoneuroni. In questa revisione della letteratura, discutiamo gli attuali progressi in questo campo concentrandoci nello specifico sulle malattie del motoneurone associate alla deregolamentazione delle strutture degli R-Loops. Questi meccanismi possono rappresentare nuovi bersagli terapeutici per queste malattie devastanti e incurabili.

Perego MGL, Taiana M, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

R-Loops in Motor Neuron Diseases.

Mol Neurobiol. 2019 Apr;56(4):2579-2589. doi: 10.1007/s12035-018-1246-y. Epub 2018 Jul 25. PubMed PMID: 30047099 IF: 4.586

Precondizionamento e ingegneria cellulare per aumentare la sopravvivenza delle cellule staminali neuronali trapiantate per la terapia delle malattie del motoneurone. (Abati et al., 2019)

Nonostante gli sforzi effettuati dai ricercatori nel campo delle malattie del motoneurone, che includono la Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA) e l'Atrofia Muscolare Spinale (SMA), esse rappresentano ancora una causa rilevante di mortalità e morbidità a livello globale. Approcci basati sul trapianto di cellule staminali neurali esogene sono stati indagati in virtù del loro variegato potenziale di proteggere e riparare i motoneuroni di primo e secondo ordine da degenerazione e infiammazione. Le cellule staminali neurali, dopo il trapianto, esercitano la

loro azione positiva non solo tramite la sostituzione delle cellule danneggiate ma anche attraverso un'azione immunomodulatoria e neurotrofica. Nonostante questi risultati promettenti, il potenziale traslazionale di queste tecniche è inficiato dal limitato engraftment e sopravvivenza delle cellule trapiantate all'interno di un microambiente ostile. In questa review, illustriamo le tecniche di nanoengineering attualmente disponibili per sfruttare le potenzialità migratorie, proliferative e secretorie delle cellule staminali neurali e il loro rilievo all'interno dell'arsenale terapeutico disponibile contro le malattie del motoneurone e gli altri disordini neurologici.

Abati E, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

Preconditioning and Cellular Engineering to Increase the Survival of Transplanted Neural Stem Cells for Motor Neuron Disease Therapy.

Mol Neurobiol. 2019 May;56(5):3356-3367. doi: 10.1007/s12035-018-1305-4. Epub 2018 Aug 17. PubMed PMID: 30120734. IF: 4.586

La proteina Sinaptotagmina 13 ha un ruolo neuroprotettivo nelle malattie del motoneurone (Nizzardo et al., in revisione)

I meccanismi responsabili della degenerazione selettiva di alcuni sottotipi di motoneuroni nelle malattie del motoneurone, tra cui la Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA) e l'Atrofia Spinale Muscolare (SMA), rimangono ampiamente sconosciuti. Tuttavia, la "firma" molecolare dei neuroni oculomotori (OMN), sottopopolazione motoneuronale resistente alla degenerazione, è distinta dai motoneuroni inferiori del tronco encefalico, e può fornire indicazioni per spiegare tale vulnerabilità differenziale. Gli OMN esprimono preferenzialmente la proteina sinaptotagmina 13 (SYT13) rispetto ai motoneuroni spinali (MN) e tale espressione viene mantenuta tra specie. La SYT13 risulta maggiormente espressa sia negli OMN sia nei restanti MN spinali che rimangono relativamente resilienti nei pazienti con SLA allo stadio terminale rispetto ai controlli. L'overespressione di SYT13 nei modelli in vitro di SLA e SMA migliora la sopravvivenza dei MN e ne incrementa la lunghezza assonale. La somministrazione di SYT13 mediante virus adeno-associati nei modelli murini SMA e SLA ne migliora il fenotipo patologico, ritardandone la denervazione muscolare e prolungandone la sopravvivenza (nei topi SLA del 14%, nei topi SMA del 50%). Sia in vitro che in vivo, la somministrazione di SYT13 riduce lo stress del reticolo endoplasmatico e l'apoptosi nei MN. Queste scoperte suggeriscono un ruolo della SYT13 come modificatore in queste patologie e come possibile bersaglio terapeutico per le malattie del motoneurone. Il nostro studio dimostra che l'analisi dei meccanismi di resilienza neuronale può portare a nuove strategie terapeutiche per prevenire la degenerazione progressiva dei motoneuroni.

M. Nizzardo, M. Taiana, F. Rizzo, J. Aguila Benitez, J. Nijssen, I. Allodi, V. Melzi, N. Bresolin, G.P. Comi, E. Hedlund and S. Corti.

Synaptotagmin 13 is neuroprotective across motor neuron diseases.

(Sottomesso ad Acta Neuropathologica)

Comprensione delle attuali opzioni emergenti per il trattamento dell'Atrofia Muscolare Spinale con Distress Respiratorio di tipo 1 (SMARD1). (sottomesso a Cellular and Molecular Life Sciences)

L'Atrofia Muscolare Spinale con Distress Respiratorio di tipo 1 (SMARD1) è una malattia autosomica recessiva dei motoneuroni caratterizzata da debolezza muscolare e paralisi diaframmatica con conseguente distress respiratorio. Senza intervento, i bambini con la forma più grave della malattia muoiono prima dei 2 anni. La SMARD1 è causata da mutazioni del gene IGHMBP2, che determinano una carenza della relativa proteina. La proteina IGHMBP2

agisce sia nel processamento che nella maturazione dell'mRNA, svolgendo così un ruolo chiave nella sopravvivenza dei motoneuroni. Sebbene sia comunque una patologia rara, la SMARD1 è la seconda malattia del motoneurone più comune nell'infanzia e attualmente il trattamento è principalmente di supporto. Infatti non è disponibile una terapia efficace, anche se negli ultimi anni un trattamento multidisciplinare è risultato essere un elemento essenziale per il miglioramento della qualità e della durata della vita in questi pazienti. I progressi nella gestione delle cure cliniche hanno notevolmente prolungato la vita delle persone affette da SMARD1 e la ricerca sui meccanismi molecolari che portano alla malattia ha identificato potenziali strategie terapeutiche. La terapia genica mediante sostituzione o correzione genica offre un grande potenziale per fermare il decorso o eventualmente prevenire questa patologia neurodegenerativa. La recente approvazione del primo approccio di terapia genica per il trattamento dell'Atrofia Muscolare Spinale (SMA) associata a mutazioni del gene SMN1 rappresenta un punto di svolta per l'applicazione di questa strategia terapeutica anche per la SMARD1 e le altre malattie neurologiche genetiche.

Perego M, Galli N, Nizzardo M, Govoni A, Taiana M, Bresolin N, Comi GP, Corti.

Current understanding of and emerging treatment options for spinal muscular atrophy with respiratory distress type 1 (SMARD1).

(sottomesso a Cellular and Molecular Life Sciences)

miR-129-5p: fattore chiave e target terapeutico per la Sclerosi Laterale Amiotrofica (sottomesso a Progress in Neurobiology).

La Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA) è una malattia neurologica grave e fatale caratterizzata dalla degenerazione selettiva dei motoneuroni. Attualmente non è disponibile nessuna terapia per questa patologia. Molte evidenze indicano che l'alterazione del metabolismo del RNA, incluso il processamento dei microRNA (miRNA), sia un fattore patogenetico rilevante e quindi un possibile target terapeutico per la SLA. In questo lavoro abbiamo riscontrato che molti componenti del sistema di processamento dei miRNA sono alterati in un modello cellulare di SLA con mutazione nel gene SOD1, suggerendo quindi la conseguente disregolazione della biogenesi dei miRNA. Il sequenziamento high-throughput della frazione degli *small RNA* ha dimostrato che tra i miRNA deregolati il miR-129-5p risulta aumentato in vari modelli di SLA dovuti a mutazioni SOD1 ed in cellule derivate da sangue periferico di pazienti SLA sporadici. L'aumento del miR-129-5p causa la downregolazione di uno dei suoi target: la proteina legante RNA ELAVL4/HuD. ELAVL4/HuD è prevalentemente espressa nei neuroni dove controlla vari miRNA neuronali. L'overespressione del pre-miR-129-1 inibisce la crescita dei neuriti e il differenziamento tramite il silenziamento di HuD *in vitro*, mentre la sua inibizione con un antagomir determina il recupero del fenotipo. Inoltre, la somministrazione di oligonucleotidi antisenso (ASO) inibitori del miR-129-5p in un modello murino di SLA, il topo SOD1 (G93A), determina un aumento significativo della sopravvivenza ed il recupero del fenotipo neuromuscolare. Questi risultati identificano il miR-129-5p come un possibile target terapeutico adatto alla modulazione tramite ASO per il trattamento della SLA.

Loffreda A, Nizzardo M, Arosio A, Ruepp MD, Calogero RA, Volinia S, Bendotti C, Ferrarese C, Lunetta C, Rizzuti M, Ronchi A, Mühlemann O, Tremolizzo L, Corti S, Barabino SML. *miR-129-5p: a key factor and therapeutic target in amyotrophic lateral sclerosis.*

(Sottomesso a Progress in Neurobiology)

Approccio combinato di RNAi/terapia genica come strategia terapeutica per la Charcot-Marie-Tooth di tipo 2A. (Rizzo et al., in preparazione)

La Charcot-Marie-Tooth di tipo 2A (CMT2A) è una rara neuropatia periferica assonale ereditaria causata da mutazioni nel gene mitofusina 2 (MFN2) e caratterizzata da progressiva debolezza muscolare distale, atrofia, deficit sensoriale e velocità di conduzione nervosa normale o quasi normale. Sono state individuate e caratterizzate numerose mutazioni di MFN2 e proposti molteplici meccanismi per comprendere la fisiopatologia della CMT2A; tuttavia, nessuna cura per questa malattia devastante è attualmente disponibile. Pertanto, è fondamentale identificare un trattamento per curare o almeno mitigare la progressione della CMT2A. Il nostro approccio, proposto in questo lavoro, combina l'RNA interference (RNAi) con la terapia genica sostitutiva del gene come strategia terapeutica per la CMT2A. Abbiamo silenziato l'allele mutante del gene MFN2 con specifici RNA a forcina (shRNA) in cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC) ottenute da pazienti affetti da CMT2A e contemporaneamente introdotto un gene MFN2 mutagenizzato, in grado di resistere all'attività dell'shRNA e codificare la proteina nativa attiva funzionalmente. Abbiamo poi differenziato le iPSC in motoneuroni spinali (MN) e analizzato i parametri subcellulari che in precedenza avevamo dimostrato essere alterati nel modello cellulare della CMT2A per valutare l'impatto della nostra terapia. Abbiamo silenziato con successo il gene MFN2 endogeno e ripristinato il livello di proteina MFN2 funzionale nelle iPSC-CMT2A senza alterare la pluripotenza delle stesse; inoltre, i MN da noi differenziati esprimevano i principali marcatori motoneuronali. Abbiamo dimostrato che RNAi/terapia genica combinata porta ad un aumento del numero di mitocondri, un miglioramento del trasporto assonale mitocondriale, un'aumentata sensibilità all'apoptosi e una riduzione dell'autofagia/mitofagia. Complessivamente i risultati ottenuti hanno evidenziato un miglioramento delle caratteristiche patologiche della CMT2A in vitro, ponendo le basi per un nuovo approccio terapeutico potenziale per il trattamento della CMT2A e di altri disordini neurologici genetici.

Rizzo F, Bono S, Salani S, Bordoni A, Melzi V, Ruepp M, Pagliarani S, Barbullushi K, Abati E, Cordiglieri C, Bresolin N, Comi G, Nizzardo M, Corti S.

RNAi/gene therapy combined approach as therapeutic strategy for Charcot-Marie-Tooth 2A. (In preparazione)

Correlazione tra genotipo, fenotipo e espressione proteica di IGHMBP2 e implicazioni nel meccanismo del non-sense mediated decay nei motoneuroni e nelle cellule somatiche non neuronali nell'Atrofia Muscolare Spinale con Distress Respiratorio di tipo 1. (Govoni et al., in preparazione)

L'Atrofia Muscolare Spinale con Distress Respiratorio di tipo 1 (SMARD1) è una malattia neuromuscolare a trasmissione autosomica recessiva, caratterizzata dalla degenerazione dei motoneuroni inferiori che si manifesta clinicamente con debolezza muscolare e insufficienza respiratoria. La SMARD1 è causata da diversi tipi di mutazioni nel gene IGHMBP2 che codifica per una proteina ubiquitaria con funzione di RNA/DNA elicasi. Attualmente non è disponibile alcuna cura e poco si conosce riguardo alla vulnerabilità selettiva dei motoneuroni. In questo lavoro abbiamo descritto 8 pazienti affetti da SMARD1 con mutazioni in IGHMBP2 (principalmente mutazioni nonsense nei primi esoni e/o mutazioni missenso nei domini funzionali). Questi pazienti hanno sviluppato grave debolezza muscolare prevalentemente a livello distale e insufficienza respiratoria che ha richiesto una ventilazione permanente. Per elucidare la correlazione tra fenotipo della malattia e profilo proteico, abbiamo esaminato il livello di espressione della proteina IGHMBP2 in diverse linee cellulari derivate sia da pazienti che da controlli (fibroblasti, linee cellulari linfoblastoidi, cellule staminali pluripotenti indotte e motoneuroni da esse derivati). Abbiamo rilevato una marcata

diminuzione della proteina IGHMBP2 in tutte le linee cellulari dei pazienti SMARD1, che risulta ancora più pronunciata nei casi determinati da mutazioni nonsense. Il trascritto IGHMBP2 sembra essere un substrato del non sense mediated decay (NMD), infatti esso non viene degradato nei pazienti affetti da SMARD1 e probabilmente porta alla produzione di proteine difettose o tronche che subiscono successivamente una degradazione post-traduzionale. È stato ipotizzato che la proteina IGHMBP2, proprio a causa della sua struttura, sia coinvolta nel metabolismo dell'mRNA e nel NMD. I nostri dati suggeriscono che la via del NMD sia effettivamente difettiva nelle cellule dei pazienti SMARD1, sottolineando quindi come la compromissione di questo meccanismo possa essere causativa della degenerazione dei motoneuroni. I nostri risultati supportano l'idea che la riduzione e/o il mancato funzionamento di IGHMBP2 sia correlato con la gravità della malattia. Questi dati forniscono quindi nuove informazioni sia per la diagnosi che per un possibile approccio terapeutico della SMARD1.

Govoni A, Taiana M, Saladini M, Galli N, Salani S, Muehlemann O, Del Bo R, Sansone V, Albamonte E, Messina S, Vita GL, Sframeli M, Bonanno C, Bresolin N, Comi GP, and Nizzardo M, Corti S.

Genotype, phenotype and protein expression correlation of IGHMBP2 and implication in non-sense mediated decay in human motor neurons and non-neuronal somatic cells in spinal muscular atrophy with respiratory distress type 1.

(in preparazione)

Morpholino peptide-coniugato per il trattamento dell'atrofia muscolare spinale. (In preparazione)

La terapia mediante oligonucleotidi antisenso (ASO) è l'unico trattamento approvato per l'Atrofia Muscolare Spinale (SMA). La SMA è causata da mutazioni nel gene *SMN*, associate ad un deficit dell'omonima proteina. Nel nostro laboratorio abbiamo già dimostrato che il Morpholino (MO), una variante di ASO, è in grado di aumentare la produzione di SMN e di migliorare il fenotipo patologico del modello murino di SMA. Tuttavia, l'efficacia terapeutica è fortemente limitata dall'inadeguata biodistribuzione e dalla scarsa efficacia nei casi sintomatici. Ad oggi, il recupero completo del fenotipo patologico *in vivo* è stato ottenuto solo in fase presintomatica, che raramente corrisponde al momento in cui viene fatta la diagnosi nei pazienti. Una possibile strategia consiste nel coniugare il MO con peptidi in grado veicolarlo nel sistema nervoso centrale (SNC), oltrepassando la barriera emato-encefalica (BEE) e migliorandone la biodistribuzione. Inoltre, questo approccio offre la possibilità di trattare la malattia in fase sintomatica, quando la BEE ha ormai raggiunto la maturazione completa, ampliando la finestra terapeutica. Abbiamo studiato l'efficacia di 4 diversi peptidi nel veicolare il MO nel SNC. Abbiamo coniugato i peptidi al MO e li abbiamo somministrati per via sistemica, valutando il loro potenziale terapeutico in termini di capacità di incrementare i livelli di SMN. I risultati ottenuti hanno dimostrato l'efficacia di tutti i peptidi ed in particolare la superiorità di due coniugati, che sono stati testati in modelli murini SMA sintomatici. I dati funzionali e di sopravvivenza hanno confermato l'efficacia del trattamento. I nostri dati hanno rivelato che il MO coniugato a dei peptidi è in grado di raggiungere il SNC dopo somministrazione sistemica e curare il fenotipo patologico. Questa strategia offre la possibilità di trattare la SMA in fase sintomatica e potrebbe essere ulteriormente ottimizzata per future sperimentazioni cliniche.

smallRNALS, Terapia molecolare della SLA mediante lo studio di smallRNA e l'analisi proteomica delle cellule staminali pluripotenti indotte derivate dai pazienti. (progetto in corso)

La Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA) è la forma più comune e grave di malattia del motoneurone ad insorgenza tardiva. I meccanismi patologici responsabili della patologia sono in gran parte sconosciuti anche se recenti studi suggeriscono che il metabolismo dell'RNA possa svolgere un ruolo cruciale nella neurodegenerazione. In particolare, i microRNA (miRNA) sono piccole molecole di RNA che sembrano essere coinvolte nell'eziopatogenesi delle malattie neurodegenerative come la SLA. Abbiamo generato cellule staminali pluripotenti indotte umane (iPSC) da fibroblasti di soggetti sani e di pazienti e le abbiamo differenziate in progenitori dei motoneuroni. Nelle cellule dei pazienti abbiamo identificato un sottogruppo di miRNA meno espressi rispetto ai controlli sani. L'analisi bioinformatica ha dimostrato che due tra questi miRNA sono responsabili di alcuni processi neurodegenerativi. Poiché i motoneuroni spinali sono le cellule principalmente colpite dalla malattia, abbiamo studiato l'espressione dei miRNA anche in queste cellule. L'analisi bioinformatica ha confermato l'importanza dei pathways biologici precedentemente identificati anche sui motoneuroni spinali. Infine, abbiamo silenziato uno specifico miRNA con un particolare oligonucleotide antisense (Morfolino) in un modello murino di SLA (SOD1G93A). I dati di sopravvivenza e funzionalità neuromuscolare hanno rivelato un significativo effetto del nostro trattamento sul fenotipo della malattia. Questi risultati dimostrano il ruolo fondamentale dei miRNA nei processi neurodegenerativi. La modulazione della loro espressione mediante Morfolino potrebbe rappresentare una strategia terapeutica adatta per agire su nuovi bersagli terapeutici. Il ripristino dei livelli fisiologici di specifici miRNA potrebbe essere utile per lo sviluppo di nuovi approcci terapeutici per la SLA e altre patologie neurologiche con potenzialità di trasferimento in ambito clinico.

Organoidi neuronali umani per studiare e trattare l'Atrofia Muscolare Spinale.

L'Atrofia Muscolare Spinale (SMA) è una malattia del motoneurone, causata da mutazioni del gene SMN1, ed è ancora la principale causa genetica di morte infantile. I recenti progressi nel trattamento della SMA hanno modificato con successo la sua storia naturale da una malattia rapidamente fatale a una condizione in cui è probabile una sopravvivenza a lungo termine. Tuttavia, esiste una grande eterogeneità in termini di risposta clinica ai trattamenti attualmente disponibili. I modelli murini e le colture cellulari convenzionali ricapitolano solo parzialmente i fenotipi SMA e non sono quindi interamente sufficienti per comprendere i meccanismi molecolari e cellulari responsabili della SMA e della risposta al trattamento. In questo lavoro, studiamo la SMA analizzando modelli in vitro 3D del midollo spinale ventrale derivati da cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC) di pazienti. I nostri risultati mostrano che gli organoidi del midollo spinale ventrale riproducono le principali caratteristiche di sviluppo e specifiche della malattia tra cui la riduzione della lunghezza assonale dei motoneuroni. L'analisi neurofisiologica ha dimostrato una maggiore eccitabilità nei neuroni SMA come segno precoce di malattia. Per dimostrare l'utilità del nostro modello per lo screening terapeutico, abbiamo testato un nuovo composto basato su oligonucleotidi antisense (ASO) che ha notevolmente incrementato l'espressione della proteina SMN e migliorato il fenotipo patologico in vitro.

Pubblicazioni scientifiche su riviste peer-reviewed

Abati E, Gagliardi D, Velardo D, Meneri M, Conte G, Cinnante C, Bresolin N, Comi G, Corti S. *Herpes Simplex virus type 2 myeloradiculitis with a pure motor presentation in a liver transplant recipient.*

Transpl Infect Dis. 2019 Dec 23:e13236. doi: 10.1111/tid.13236. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 31868290.

Saladini M, Nizzardo M, Govoni A, Taiana M, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

Spinal muscular atrophy with respiratory distress type 1: Clinical phenotypes, molecular pathogenesis and therapeutic insights.

J Cell Mol Med. 2019 Dec 4. doi: 10.1111/jcmm.14874. [Epub ahead of print]. PubMed PMID: 31802621.

Costamagna G, Andreoli L, Corti S, Faravelli I.

iPSCs-Based Neural 3D Systems: A Multidimensional Approach for Disease Modeling and Drug Discovery.

Cells. 2019 Nov 14;8(11). pii: E1438. doi: 10.3390/cells8111438. Review. PubMed PMID: 31739555; PubMed Central PMCID: PMC6912470.

Bellotti AS, Andreoli L, Ronchi D, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

Molecular Approaches for the Treatment of Pompe Disease.

Mol Neurobiol. 2019 Nov 12. doi: 10.1007/s12035-019-01820-5. [Epub ahead of print] Review. PubMed PMID: 31713816.

Forotti G, Nizzardo M, Bucchia M, Ramirez A, Trombetta E, Gatti S, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

CSF transplantation of a specific iPSC-derived neural stem cell subpopulation ameliorates the disease phenotype in a mouse model of spinal muscular atrophy with respiratory distress type 1. **Exp Neurol.** 2019 Nov;321:113041. doi: 10.1016/j.expneurol.2019.113041. Epub 2019 Aug 21. PubMed PMID: 31445043.

Bitetto G, Ronchi D, Bonato S, Pittaro A, Compagnoni GM, Bordoni A, Salani S, Frattini E, Lopez G, Cribiù FM, Corti S, Comi GP, Bresolin N, Di Fonzo A.

Loss of the nucleoporin Aladin in central nervous system and fibroblasts of Allgrove Syndrome. **Hum Mol Genet.** 2019 Oct 10. pii: ddz236. doi: 10.1093/hmg/ddz236. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 31600784.

Abati E, Bresolin N, Comi G, Corti S.

Advances, Challenges, and Perspectives in Translational Stem Cell Therapy for Amyotrophic Lateral Sclerosis.

Mol Neurobiol. 2019 Oct;56(10):6703-6715. doi: 10.1007/s12035-019-1554-x. Epub 2019 Mar 26. PubMed PMID: 30911936.

Barbullushi K, Abati E, Rizzo F, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

Disease Modeling and Therapeutic Strategies in CMT2A: State of the Art.

Mol Neurobiol. 2019 Sep;56(9):6460-6471. doi: 10.1007/s12035-019-1533-2. Epub 2019 Mar 4. PubMed PMID: 30830587.

Gagliardi D, Meneri M, Saccomanno D, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

Diagnostic and Prognostic Role of Blood and Cerebrospinal Fluid and Blood Neurofilaments in Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Review of the Literature.

Int J Mol Sci. 2019 Aug 25;20(17). pii: E4152. doi: 10.3390/ijms20174152. PubMed PMID: 31450699; PubMed Central PMCID: PMC6747516.

Brusa R, Faravelli I, Gagliardi D, Magri F, Cogiamanian F, Saccomanno D, Cinnante C, Mauri E, Abati E, Bresolin N, Corti S, Comi GP.

Ophthalmoplegia Due to Miller Fisher Syndrome in a Patient With Myasthenia Gravis. Front Neurol. 2019 Aug 13;10:823. doi: 10.3389/fneur.2019.00823. eCollection 2019. PubMed PMID: 31456730; PubMed Central PMCID: PMC6700242.

Monfrini E, Straniero L, Bonato S, Monzio Compagnoni G, Bordoni A, Dilella R, Rinchetti P, Silipigni R, Ronchi D, Corti S, Comi GP, Bresolin N, Duga S, Di Fonzo A.

Neurofascin (NFASC) gene mutation causes autosomal recessive ataxia with demyelinating neuropathy.

Parkinsonism Relat Disord. 2019 Jun;63:66-72. doi: 10.1016/j.parkreldis.2019.02.045. Epub 2019 Mar 1. PubMed PMID: 30850329.

Piga D, Salani S, Magri F, Brusa R, Mauri E, Comi GP, Bresolin N, Corti S.

Human induced pluripotent stem cell models for the study and treatment of Duchenne and Becker muscular dystrophies.

Ther Adv Neurol Disord. 2019 May 3;12:1756286419833478. doi: 10.1177/1756286419833478. eCollection 2019. Review. PubMed PMID: 31105767; PubMed Central PMCID: PMC6501480.

Abati E, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

Preconditioning and Cellular Engineering to Increase the Survival of Transplanted Neural Stem Cells for Motor Neuron Disease Therapy.

Mol Neurobiol. 2019 May;56(5):3356-3367. doi: 10.1007/s12035-018-1305-4. Epub 2018 Aug 17. PubMed PMID: 30120734.

Perego MGL, Taiana M, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

R-Loops in Motor Neuron Diseases.

Mol Neurobiol. 2019 Apr;56(4):2579-2589. doi: 10.1007/s12035-018-1246-y. Epub 2018 Jul 25. PubMed PMID: 30047099.

Gagliardi D, Comi GP, Bresolin N, Corti S.

MicroRNAs as regulators of cell death mechanisms in amyotrophic lateral sclerosis.

J Cell Mol Med. 2019 Mar;23(3):1647-1656. doi: 10.1111/jcmm.13976. Epub 2019 Jan 4. PubMed PMID: 30614179; PubMed Central PMCID: PMC6378226.

Rizzo F, Nizzardo M, Vashisht S, Molteni E, Melzi V, Taiana M, Salani S, Santonicola P, Di Schiavi E, Bucchia M, Bordoni A, Faravelli I, Bresolin N, Comi GP, Pozzoli U, Corti S.

Key role of SMN/SYNERG1 and RNA-Motif 7 in spinal muscular atrophy: RNA-Seq and motif analysis of human motor neurons.

Brain. 2019 Feb 1;142(2):276-294. doi: 10.1093/brain/awy330. PubMed PMID: 30649277; PubMed Central PMCID: PMC6351774.

Gagliardi D, Mauri E, Magri F, Velardo D, Meneri M, Abati E, Brusa R, Faravelli I, Piga D, Ronchi D, Triulzi F, Peverelli L, Sciacco M, Bresolin N, Comi GP, Corti S, Govoni A.

Can Intestinal Pseudo-Obstruction Drive Recurrent Stroke-Like Episodes in Late-Onset MELAS Syndrome? A Case Report and Review of the Literature.

Front Neurol. 2019 Jan 31;10:38. doi: 10.3389/fneur.2019.00038. eCollection 2019. PubMed PMID: 30766507; PubMed Central PMCID: PMC6365425.

Abstract presentati a congressi scientifici internazionali

1. Rizzo F, Bono S, Salani S, Bordoni A, Melzi V, Ruepp M, Pagliarani S, Barbullushi K, Abati E, Cordiglieri C, Bresolin N, Comi GP, Nizzardo M, Corti S.
RNAi/gene therapy combined approach as therapeutic strategy for Charcot-Marie-Tooth 2A AAN 2019
2. Forotti G, Nizzardo M, Taiana M, Bucchia M, Ramirez A, Bresolin N, Comi G, Corti S.
The Transplantation of a Specific iPSC-Derived Neural Stem Cells Subpopulation Improves the Pathological Hallmarks of Spinal Muscular Atrophy with Respiratory Distress Type 1 in Mice.
AAN 2019
3. Abati E, Rizzo F, Bono S, Salani S, Bordoni A, Melzi V, Ruepp MD, Pagliarani S, Barbullushi K., Cordiglieri C., Bresolin N., Comi G., Nizzardo M., Corti S.
Evaluation of RNA interference/gene therapy combination as potential therapeutic approach for Charcot-Marie-Tooth 2.
EAN 2019
4. Brusa R., Rizzuti M., Magri F., Velardo D., Meneri M., Govoni A., Faravelli I., Parente V., Gagliardi D., Mauri E., Costamagna G., Corti S., Bresolin N., Comi G. P..
MicroRNAs as serum biomarkers in Becker Muscular Dystrophy.
EAN 2019
5. Brusa R., Meneri M., Faravelli I., Gagliardi D., Velardo D., Mauri E., Abati E., Triulzi F., Valcamonica G., Corti S., Bresolin N., Comi G. P.
Distinguish primary central nervous system lymphoma from demyelinating lesions in young patients.
EAN 2019
6. Gagliardi D, Taiana M, Bersani M, Nizzardo M, Rinchetti P, Barabino S, Faravelli I, Bresolin N, Comi GP, Corti S.
Generation of C9-ALS patient specific iPSC-derived motor neurons for pathogenetic studies and evaluation of Morpholino oligomers efficacy.
EAN 2019
7. Faravelli I, Rinchetti P., Forotti G., Mapelli L., Rizzuti M., Cordiglieri C., Calandriello L., Tamanini S., Bresolin N., Comi G.P., Nizzardo M and Corti S.
Modelling and investigation of Spinal Muscular Atrophy pathology with human 3D organoids.
EAN 2019
8. Costamagna G, Rizzuti M, Filosa G, Melzi V, Calandriello L, Dioni L, Bollati V, Gagliardi D, Bresolin N, Comi GP, Barabino S, Nizzardo M, Corti S.
Modulation of selected miRNAs in ALS models for the development of novel therapeutics. EAN 2019
9. Muntoni F, Baranello G, Bruno C, Corti S, Masson R, Straub V, Vita G, Kernbauer E, Webb A, Ouyang H, Feltner DE, Meriggioli M, Lavrov A, L'Italien J, Sproule DM, Mercuri E.
Study Design of STRIVE-EU, a Phase 3 Trial of Onasemnogene Apeparvovec Gene-Replacement Therapy in Patients with Spinal Muscular Atrophy Type 1 in Europe,
EAN 2019

10. Mercuri E, Baranello G, Day JW, Bruno C, Corti S, Chiriboga CA, Crawford TO, Darras BT, Finkel RS, Connolly AM, Iannaccone ST, Kuntz NL, Masson R, Peña LDM, Schultz M, Shieh PB, Smith EC, Feltner DE, Ouyang H, Lavrov A, Kernbauer E, Williamson S, L'Italien J, Sproule DM, Mendell JR, Muntoni F.
Onasemnogene Apeparvovec Gene-Replacement Therapy for Spinal Muscular Atrophy Type Clinical Update (STRIVE and STRIVE-EU),
EAN 2019
11. Biella F, Taiana M, Bersani M, Nizzardo M, Rizzuti M, Rocha Levone B, Bresolin N, Comi GP, Barabino S, Corti S.
Investigation of molecular pathological hallmarks and therapeutic strategies in C9orf72 human lines.
ENCALS 2019
12. Faravelli I, Rinchetti P, Forotti G, Mapelli L, Rizzuti M, Cordiglieri C, Calandriello L, Tamanini S, Bresolin N, Comi GP, Nizzardo M, Corti S.
Human 3D cell culture systems to model and investigate Spinal Muscular Atrophy pathology 1.
CureSMA Los Angeles 2019
13. Rizzuti M, Bersani M, Ramirez A, Bordoni A, Taiana M, Bresolin N, Comi GP, Corti S, Nizzardo M. Cell Penetrating Peptides-conjugated Morpholino: an improved and promising treatment for symptomatic SMA cases. CureSMA
Los Angeles 2019
14. Corti S, Faravelli I, Rinchetti P, Mancinelli S, Mapelli L, Forotti G, Rizzuti M., Cordiglieri C, Calandirello L, Tamanini S, Bresolin N, Comi GP, Lodato S, Nizzardo M.
Human 3D cell culture systems to model and elucidate spinal muscular atrophy pathology and treatment. SFN 2019
15. Comi GP, Taiana M., Bersani M, Biella F., Nizzardo M., Kizilirmak C., Rinchetti P. Barabino S., Bresoolin N. Corti S.
Morpholino oligomers ameliorate pathological phenotype in C9orf72 ALS iPSC-derived lines. SFN 2019.
16. Mercuri E, Aurore D, Baranello G, Boespflug-Tanguy O, Bruno C, Corti S, Chiriboga CA, Crawford TO, Darras BT, Day JW, Deconinck N, Finkel RS, Connolly AM, Iannaccone ST, Kuntz NL, Masson R, Peña LDM, Schultz M, Servais L, Shieh PB, Smith EC, Saito K, Scoto MSK, Straub V, Feltner DE, Tausher-Wisniewski S, Ogrinc F, Ouyang H, Menier M, Lavrov A, Macek T, Kernbauer E, Berkhout H, Thomas P, Sproule DM, Mendell JR, Muntoni F.
Onasemnogene abeparvovec gene replacement therapy for Spinal Muscular Atrophy Type 1 (SMA1): Global Pivotal Phase 3 Study Program (STRIVE-US, STRIVE-EU, STRIVE-AP). EPNS 2019 European Paediatric Neurology Society - 13th Congress Sep 17, 2019 - Sep 21, 2019 Athens, Greece
17. Muntoni F, Baranello G, Bruno C, Corti S, Masson R, Straub V, Vita G, Ernst U, Kernbauer E, Williamson S, Ouyang H, Feltner DE, Meriggioli M, Lavrov A, L'Italien J, Sproule DM, Mercuri E.
Study Design of STRIVE-EU, a Phase 3 Trial of AVXS-101 Gene-Replacement Therapy (GRT) in Patients With Spinal Muscular Atrophy Type 1 (SMA1) in Europe

18. Mercuri E, Aurore D, Baranello G, Boespflug-Tanguy O, Bruno C, Corti S, Chiriboga CA, Crawford TO, Darras BT, Day JW, Deconinck N, Finkel RS, Connolly AM, Iannaccone ST, Kuntz NL, Masson R, Peña LDM, Schultz M, Servais L, Shieh PB, Smith EC, Scoto MSK, Straub V, Feltner DE, Tausher-Wisniewski S, Ogrinc F, Ouyang H, Menier M, Lavrov A, Macek T, Kernbauer E, Berkhout H, Thomasma P, Sproule DM, Mendell JR, Muntoni F. *Onasemnogene Apeparvovec Gene-Replacement Therapy for Spinal Muscular Atrophy Type 1: Pivotal Studies Clinical Update (STRIVE-EU and STRIVE)*.
SINP-Napoli 2019 Nov 28-30, 2019 Naples, Italy
19. Mercuri E, Baranello G, Boespflug-Tanguy O, Bruno C, Chiriboga CA, Connolly AM, Corti S, Crawford TO, Darras BT, Day JW, Deconinck N, Finkel RS, Iannaccone ST, Kuntz NL, Kwon J, Masson R, Peña LDM, Scoto MSK, Servais L, Shieh PB, Smith EC, Straub V, Zaidaman C, Schultz M, Feltner DE, Tausher-Wisniewski S, Ogrinc F, Ouyang H, Menier M, Lavrov A, Macek T, Kernbauer E, Berkhout H, Thomasma P, Sproule DM, Mendell JR, Muntoni F.
Onasemnogene Apeparvovec Gene Therapy for Spinal Muscular Atrophy Type 1: Pivotal Studies Clinical Update (STRIVE-US and STRIVE-EU). JSFM 2019:
Societe Francaise de Myologie - XVII Journee Nov 20, 2019 –
Nov 22, 2019 Marseille, France
20. Mercuri E, Aurore D, Baranello G, Boespflug-Tanguy O, Bruno C, Corti S, Chiriboga CA, Crawford TO, Darras BT, Day JW, Deconinck N, Finkel RS, Connolly AM, Iannaccone ST, Kuntz NL, Masson R, Peña LDM, Schultz M, Servais L, Shieh PB, Smith EC, Scoto MSK, Straub V, Feltner DE, Tausher-Wisniewski S, Ogrinc F, Ouyang H, Menier M, Lavrov A, Macek T, Kernbauer E, Berkhout H, Thomasma P, Sproule DM, Mendell JR, Muntoni F. *Onasemnogene Apeparvovec Gene-Replacement Therapy for Spinal Muscular Atrophy Type 1: Pivotal Studies Clinical Update (STRIVE-EU and STRIVE US, STRIVE AP)*. WCN 2019:
World Congress of Neurology - 24th, Oct 27-31, Dubai, United Arab Emirates

Abstract presentati a congressi scientifici nazionali

1. Rizzuti M, Nizzardo M, Melzi V, Dioni L, Loffreda A, Resnati D, Barabino S, Corti S. ALS molecular therapy exploiting integrated small RNAs and proteomic analysis of patient-derived induced pluripotent stem cells. ARISLA 2019
2. Corti S. “Novità e prospettive nelle malattie neuromuscolari”. XII Corso residenziale di Genetica Pediatrica Sindromi malformative complesse con disabilità intellettiva Starhotels Excelsior Bologna, 10-12 aprile 2019.
3. Corti S. Gene therapy and iPS-derived molecular targets in SMA AIM, Bergamo 2019
4. Magri F, Mauri E, Ronchi D, Govoni A, Brusa R, Fortunato F, D’Angelo MG, Moggio M, Bresolin N, Corti S, Comi G.P. Limb Girdle Muscular Dystrophies molecular diagnosis. AIM, Bergamo 2019.
5. Govoni A, Magri F, Meneri M, Velardo D, Ronchi D, Cinnante C, Triulzi F, Vergari M, Cogiamanian F, Stocchetti N, Calderini E, Albamonte E, Sansone VA, D’Angelo MG, Corti SP, Comi GP. Clinical and muscle MRI profile of a cohort of SMA patients being treated with Nusinersen AIM Bergamo 2019

6. Meneri M, Govoni A, Magri F, Ronchi D, Manenti GF, Brusa R, Velardo D, Albamonte E, Sansone V, Previtali SC, Berardinelli A, Corti SP, Comi GP. SMN1 intragenic mutations in a cohort of Italian SMA patients. AIM Bergamo 2019
7. Velardo D, Abati E, Brusa R, Magri F, Govoni A, Meneri M, Sciacco M, Peverelli L, Cinnante C, Triulzi F, Corti S, Bresolin N, Moggio M, Comi GP. Pediatric anti-HMGCR necrotizing myopathy resembling limb-girdle muscular dystrophy. AIM Bergamo 2019
8. Brusa R, Del Bo R, Ronchi D, Peverelli L, Velardo D, Meneri M, Magri F, Govoni A, Faravelli I, Gagliardi D, Mauri E, Abati E, Costamagna G, Cinnante C, Sciacco M, Moggio M, Corti S, Comi GP, Torrente Y. Founder mutation in Eastern Europe patients with GNE myopathy. AIM Bergamo 2019
9. Corti S. Terapie innovative nelle distrofie muscolari dei cingoli -2° Congresso Internazionale Distrofia dei cingoli da deficit di Calpaina 3 - Il paziente, la malattia, la cura, invited speaker Bosiso Parini.
10. Govoni A, Corti S, Phenotypic features of adult SMA patients treated with Spinraza, FSMA 2019 Genova.
11. Monfrini E, Bonato S, Straniero L, Duga S, Comi GP, Bresolin N, Monzio Compagnoni G, Corti S and Di Fonzo A. Neurofascin (NFASC) is a novel gene associated with cerebellar ataxia and demyelination neuropathy. SIN 2019
12. Abati E, Manini A, Rizzo F., Del Bo R, Citterio G., Mandich P, Bassi M, Bresolin N, Comi G, Corti S. Identification of two novel MFN2 mutations in CMT2A. SIN 2019.
13. Brusa R, Brajkovic S, Faravelli I, Gagliardi D, Mauri E, Corti S, Comi GP. Opsoclonus in a patient with aggressive large cell neuroendocrine carcinoma. SIN 2019
14. Gagliardi D, Brusa R, Abati E, Faravelli I, Mauri E, Meneri M, Velardo D, Triulzi F, Bresolin N, Comi G, Corti S. Central nervous system lesions in a young and immunocompetent patient: not only inflammation. SIN 2019
15. Bernat Fuertes M, Mercuri E, Baranello G, Day JW, Bruno C, Corti S, Chiriboga CA, Crawford TO, Darras BT, Finkel RS, Connolly AM, Iannaccone ST, Kuntz NL, Masson R, Peña LDM, Schultz M, Shieh PB, Smith EC, Feltner DE, Ouyang H, Lavrov A, Kernbauer E, Williamson S, L'Italien J, Sproule DM, Mendell JR, Muntoni F. AVXS-101 gene replacement therapy for spinal muscular atrophy type 1: pivotal studies and Clinical Update (STRIVE-EU and STRIVE). SIN, 2019 Bologna.
16. Faravelli I, Magri F, Meneri M, Velardo D, Abati E, Parente V, Saccomanno D, Ronchi D, Stocchetti N, Calderini E, D'Angelo MG, Albamonte E, Sansone V, Comi G, Corti S, Govoni A. Can cerebrospinal fluid neurofilaments represent a reliable pharmacodynamic biomarker for Spinal Muscular Atrophy, SIN 2019 Bologna.
17. Gagliardi D, Saccomanno D, Meneri M, Bresolin N, Comi G, Corti S. Diagnostic and prognostic role of cerebrospinal fluid neurofilaments in Amyotrophic Lateral Sclerosis. SIN 2019 Bologna.
18. Velardo D, Abati E, Brusa R, Magri F, Govoni A, Meneri M, Sciacco M, Cinnante C, Ciscato P, Corti S, Bresolin N, Moggio M, Comi G. Pediatric anti-hmgcr necrotizing myopathy resembling limb-girdle muscular dystrophy. SIN 2019 Bologna.
19. Faravelli I, Rinchetti P, Mancinelli S, Mapelli L, Forotti G, Rizzuti M, Cordiglieri C, Calandriello L, Tamanini S, Biella F, Costamagna G, D'Angelo E, Bresolin N, Comi GP, Lodato S, Nizzardo M and Corti S. Modelling Spinal Muscular Atrophy with

human 3D cell culture systems EOS 2019 – EUROPEAN ORGANOID SYMPOSIUM

20. Corti S Knockdown and Replacement of MFN2: a Gene Therapy to treat Dominantly Inherited Peripheral Neuropathy CMT2A Telethon Meeting Riva del Garda
21. Pagliari E., Bersani M., Rizzuti M., Bordoni A., Comi GP., Corti S., Nizzardo M. CPPs-conjugated antisense nucleotides: a new therapeutic strategy for Spinal Muscular Atrophy symptomatic patients. Telethon Meeting Riva del Garda 2019
22. Biella F., Taiana M., Bersani M., Nizzardo M., Rizzuti M., Levone BR., Bresolin N. Comi G.P., Barabino S., Corti S. Investigation of molecular pathological hallmarks and therapeutic strategies in C9orf72 human lines. BrYan Milan 2019
23. Galli N, Taiana M, Pagliari E, Ghezzi SB, Bresolin N, Comi GP, Corti S, Nizzardo M, IGHMBP2 related pathological pathways in Spinal Muscular Atrophy with Respiratory Distress type 1 (SMARD1) in vitro models. BrYan Milan 2019
24. Pagliari E., Bersani M., Rizzuti M., Bordoni A., Comi GP., Corti S., Nizzardo M. CPPs-conjugated antisense nucleotides: a new therapeutic strategy for Spinal Muscular Atrophy symptomatic patients. BrYan Milan 2019
25. Rizzuti M, Nizzardo M, Melzi V, Dioni L, Loffreda A, Resnati D, Barabino S, Corti S. ALS molecular therapy exploiting integrated small RNAs and proteomic analysis of patient-derived induced pluripotent stem cells. ARISLA Milan 2019
26. Corti S. Terapie innovative nelle distrofie muscolari dei cingoli. Congresso Calpaina 3 Bosisio Parini

Collaborazioni scientifiche in atto con istituti nazionali ed internazionali:

1. RISE CROSS-NEUROD 2018-2022— Transferring autonomous and non autonomous cell degeneration 3D models between EU and USA for development of effective therapies for neurodegenerative diseases (ND), Columbia University, NY, USA.
2. “Studio di nuovi approcci di terapia genica per l’Atrofia Muscolare Spinale (SMA) e l’atrofia muscolare spinale con Distress Respiratorio (SMARD1)”, Prof. Kathrin Mayer, Ph.D, Professore Associato, The Research Institute at Nationwide Children’s Hospital/ The Ohio State University, Center for Gene Therapy, Columbus, Ohio, USA.
3. “Identificazione di molecole con un ruolo neuroprotettivo nelle malattie del motoneurone”, Prof. Eva Hedlund, PhD, Professore Associato di Neurobiologia, Department of Neuroscience, Karolinska Institutet, Stockholm Sweden
4. “Studio di oligonucleotidi coniugati con peptidi per lo sviluppo di una strategia terapeutica della SMA”, Prof. H. Moulton Oregon University.
5. “Basi Molecolari della Sclerosi Laterale Amiotrofica” SLAGEN consortium
6. “European ALS population study”, EURALS Consortium
7. “Sviluppo di una strategia terapeutica per mitofusinosi” in collaborazione con l’Associazione Mitofusina 2 (<http://www.progettomitofusina2.com/it/associazione>).
8. “Basi molecolari della SMA”, Dr. Uberto Pozzoli, IRCCS E. Medea Bosisio, Parini, Italy
9. “Studio dei meccanismi patogenetici e di possibili approcci terapeutici in Drosophila in comparazione con modelli umani”, Prof F. Feiguin, Centre for Genetic Engineering and Biotechnology Trieste.

10. ALS molecular therapy exploiting integrated small RNAs analysis of patient-derived induced pluripotent stem cells, Prof S. Barabino, Università degli studi di Milano-Bicocca.
11. Translating molecular mechanism into ALS risk and patient's well being (TRANS-ALS) Prof. Cereda, IRCCS Istituto Neurologico Monidino, Prof. Ratti, Istituto Auxologico.
12. "MicroRNA profiling in iPSCs", Dr. Bernasconi e Dr. Marcuzzo, Istituto Neurologico Besta.
13. "C. Elegans per lo studio di modificatori genetici della SMA e della SLA", Dr. Di Schiavi, CNR di Napoli.

Finanziamenti per progetti di ricerca ottenuti da enti pubblici o privati

1. RISE CROSS-NEUROD 2018-2022— Transferring autonomous and non autonomous cell degeneration 3D models between EU and USA for development of effective therapies for neurodegenerative diseases (ND) (Finanziamento Comunità Europea).
2. TLF grant 2017-2019: Modulating motor neuron vulnerability using the oculomotor restricted genes IGF-2 and SYT13 for ALS therapy
3. Cariplo grant, Young Researcher Biomedical Research 2016-2019: Assessing the pathogenetic role of tRNA and rRNA deregulation in disease-specific human and mouse models to understand pathogenesis and identify molecular therapeutics targets for Spinal Muscular Atrophy with Respiratory Distress type 1 (SMARD1) (Finanziamento Cariplo)
4. Finanziamento Associazione Mitofusina 2: "Sviluppo di una strategia terapeutica per mitofusinopatie"
5. INTEGRative multi-OMICS approaches on iPSC-derived 2D and 3D models to elucidate the role of immune and energy metabolism related genes/pathways in Amyotrophic Lateral Sclerosis 2019-2022, EU grant

U.O.S.D. NEUROLOGIA- MALATTIE NEUROMUSCOLARI E RARE

· RESPONSABILE:

Prof. Giacomo P. Comi

· COLLABORATORI:

- Dott. Monica Sciacco: Dirigente Medico Fondazione - Neurologo, Dottore di ricerca in Scienze Neurologiche, responsabile "Banca tessuto muscolare scheletrico, nervo periferico, DNA e colture cellulari"
- Dott. Gigliola Fagiolari: Biologo - Tecnico ospedaliero Fondazione
- Dott. Michela Ripolone: Biologo - Contrattista Fondazione
- Dott. Raffaella Violano: Biologo - Contrattista Fondazione
- Dott. Maurizio Moggio, Neurologo e Neuropatologo. Consulente
- Sig.ra Patrizia Ciscato: Tecnico ospedaliero Fondazione

Pubblicazioni Scientifiche

Villa L, Lerario A, Calloni S, Peverelli L, Matinato C, DE Liso F, Ceriotti F, Tironi R, Sciacco M, Moggio M, Triulzi F, Cinnante C.

Immune-mediated necrotizing myopathy due to statins exposure.

Acta Myol. 2018 Dec 1;37(4):257-262. eCollection 2018 Dec.

PMID: 30944904

IF: 0.818

La miopatia autoimmune necrotizzante indotta dalle statine (IMNM) è una malattia autoimmune indotta dagli anticorpi anti-3-idrossi-3-metilglutaril-coenzima-A reduttasi (anti-HMGCR). Abbiamo eseguito una valutazione retrospettiva clinica, istologica e radiologica di 5 pazienti con un follow-up terapeutico di 3 anni. Tutti i pazienti avevano assunto statine e hanno manifestato debolezza prossimale che persisteva dopo l'interruzione del farmaco. Le biopsie muscolari hanno rivelato una miopatia necrotizzante primaria senza infiltrati infiammatori. Per tutti i pazienti si è resa necessaria una terapia di combinazione immunomodulante per raggiungere la remissione clinica. La risonanza magnetica (MRI) ha mostrato la presenza di edema nel gastrocnemio mediale, nella loggia posteriore e centrale della coscia, nella loggia posteriore del braccio e nei muscoli infrascapolare e sottoscapolare, nonché un'estesa infiammazione dei tessuti sottocutanei e della fascia muscolare. Gli esami ematochimici, la biopsia muscolare e la risonanza magnetica sono fondamentali per la diagnosi e il follow-up dell'IMNM. L'uso crescente di statine nella popolazione generale aumenta l'importanza della conoscenza di questa malattia nella pratica clinica.

Morin G, Biancalana V, Echaniz-Laguna A, Noury JB, Lornage X, Moggio M, Ripolone M, Violano R, Marcorelles P, Maréchal D, Renaud F, Maurage CA, Tard C, Cuisset JM, Laporte J, Böhm J.

Tubular aggregate myopathy and Stormorken syndrome: Mutation spectrum and genotype/phenotype correlation.

Hum Mutat. 2020 Jan;41(1):17-37. doi: 10.1002/humu.23899. Epub 2019 Sep 15.

PMID: 31448844

IF: 4.453

Riassunto: La normale fisiologia delle cellule e dei tessuti dipende strettamente dalla regolazione precisa dell'ingresso, della conservazione e del rilascio di calcio (Ca^{2+}). L'ingresso di Ca^{2+} dal compartimento extracellulare e si basa principalmente sull'accurata interazione tra il sensore Ca^{2+} STIM1 e il canale Ca^{2+} ORAI1. Le mutazioni di STIM1 o ORAI1 alterano l'omeostasi del Ca^{2+} e sono associate a gravi patologie. Le mutazioni recessive di "perdita di funzione" (loss of function) causano immunodeficienza combinata, mentre le mutazioni dominanti di "guadagno di funzione" (gain of function) inducono un'eccessiva entrata extracellulare di Ca^{2+} e causano la miopatia da aggregati tubulari (TAM) e la sindrome di Stormorken (STRMK). TAM e STRMK sono varianti della stessa malattia multisistemica caratterizzata da debolezza muscolare, miosi, trombocitopenia, iposplenismo, ittiosi, dislessia e bassa statura. Ad oggi sono state descritte 42 famiglie TAM / STRMK, noi nel lavoro riportiamo altre cinque famiglie per le quali forniamo dati clinici, istologici, ultrastrutturali e genetici. Abbiamo inoltre effettuato una revisione dei casi già

descritti, discusso i meccanismi patogenetici, effettuato una correlazione genotipo-fenotipo e delineato un'efficiente strategia di screening per la diagnosi molecolare di TAM / STRMK.

Ross JA, Levy Y, Ripolone M, Kolb JS, Turmaine M, Holt M, Lindqvist J, Claeys KG, Weis J, Monforte M, Tasca G, Moggio M, Figeac N, Zammit PS, Jungbluth H, Fiorillo C, Vissing J, Witting N, Granzier H, Zanuteli E, Hardeman EC, Wallgren-Pettersson C, Ochala J.

Acta Neuropathol. 2019 Sep;138(3):477-495. doi: 10.1007/s00401-019-02034-8. Epub 2019 Jun 19.

Impairments in contractility and cytoskeletal organisation cause nuclear defects in nemaline myopathy.

PMID: 31218456

IF: 18,174

La miopatia nemalinica (NM) è una malattia del muscolo scheletrico causata da mutazioni dei geni coinvolti nei meccanismi di contrazione muscolare, in particolare quelle legate alla struttura e / o alla regolazione dei filamenti sottili. Molti aspetti patogenetici di questa malattia rimangono poco chiari. In questo lavoro analizziamo nuovi segni patologici nelle fibre muscolari scheletriche di modelli murini e di pazienti con NM: spaziatura e morfologia irregolare dei nuclei; disorganizzazione della membrana nucleare; alterato riarrangiamento della cromatina; disorganizzazione del citoscheletro corticale. Le alterazioni della contrattilità sono la causa principale di questi difetti nucleari. Abbiamo anche definito il ruolo dell'organizzazione dei microtubuli nel determinare la morfologia nucleare, un fenomeno che probabilmente contribuisce alle alterazioni nucleari in questa malattia. I nostri risultati si sovrappongono a quelli relativi a malattie causate direttamente dalle mutazioni in geni che codificano le proteine della membrana nucleare o del citoscheletro. Stante il ruolo fondamentale della forma e della membrana nucleari nella regolazione dell'espressione genica, e del citoscheletro nel mantenimento dell'integrità delle fibre muscolari, i nostri dati fanno luce su alcuni dei segni distintivi della NM, in particolare la disorganizzazione dei filamenti contrattili, le alterate proprietà meccaniche e le alterazioni trascrizionali.

Filosto M, Cotti Piccinelli S, Ravaglia S, Servidei S, Moggio M, Musumeci O, Donati MA, Pegoraro E, Di Muzio A, Maggi L, Tonin P, Marrosu G, Sancricca C, Lerario A, Sacchini M, Semplicini C, Bozzoni V, Telese R, Bonanno S, Piras R, Maioli MA, Ricci G, Vercelli L, Galvagni A, Gallo Cassarino S, Caria F, Mongini T, Siciliano G, Padovani A, Toscano A.

Assessing the Role of Anti rh-GAA in Modulating Response to ERT in a Late-Onset Pompe Disease Cohort from the Italian GSDII Study Group.

Adv Ther. 2019 May;36(5):1177-1189. doi: 10.1007/s12325-019-00926-5. Epub 2019 Mar 16.

PMID: 30879255

IF: 3.260

I pazienti con malattia di Pompe ad esordio tardivo (LOPD) sottoposti a terapia enzimatica sostitutiva (ERT) possono sviluppare anticorpi IgG anti alglucosidasi alfa (anti-rhGAA) nei primi 3 mesi di trattamento. L'esatto ruolo di questi anticorpi nel modulare l'efficacia della ERT in questo gruppo di pazienti non è ancora del tutto chiaro. Per tale motivo abbiamo studiato un'ampia coorte italiana di pazienti con LOPD.

Abbiamo analizzato i risultati clinici ed eseguito misurazioni seriali dei titoli di anticorpi anti IgG anti-rh-GAA in 64 pazienti con LOPD trattati con ERT. Il primo esame (T0) è stato completato in media a 17,56 mesi dopo l'avvio di ERT, mentre il follow-up (T1) è stato raccolto in media a 38,5 mesi. Quali parametri di confronto nonché di correlazione col titolo anticorpale abbiamo utilizzato il test di camminata di sei minuti (6MWT), il punteggio MRC, le prestazioni in termini di deambulazione, salita-discesa scale e passaggi posturali e la capacità vitale forzata.

I nostri risultati hanno evidenziato che quasi il 22% dei pazienti non ha mai sviluppato anticorpi contro GAA, mentre il 78,1% aveva un titolo positivo (31,2% con titolo basso, 43,8% con titolo medio e 3,1% con titolo alto). Non abbiamo rilevato differenze statisticamente significative nelle suddette correlazioni tra T0 e T1 ad eccezione di un sottogruppo di pazienti trattati <36 mesi, in cui quelli con un titolo anticorpale nullo mostravano un miglioramento del punteggio MRC maggiore rispetto ai pazienti con titolo positivo.

In conclusione, I nostri risultati hanno mostrato che la generazione di anticorpi anti-rh-GAA non sembra influenzare in modo significativo i risultati clinici e l'efficacia della terapia. Tuttavia, riteniamo che il dosaggio degli anticorpi debba continuare ad essere effettuato nel tempo specialmente nei casi con evidenza di declino clinico nonostante la ERT.

Musumeci O, Barca E, Lamperti C, Servidei S, Comi GP, Moggio M, Mongini T, Siciliano G, Filosto M, Pegoraro E, Primiano G, Ronchi D, Vercelli L, Orsucci D, Bello L, Zeviani M, Mancuso M, Toscano A.

Lipomatosis Incidence and Characteristics in an Italian Cohort of Mitochondrial Patients.

Front Neurol. 2019 Feb 27;10:160. doi: 10.3389/fneur.2019.00160. eCollection 2019.

PMID: 30873109

IF: 2.635

Riassunto:

Alessandrino F, Cristiano L, Cinnante CM, Tartaglione T, Gerevini S, Verdolotti T, Colafati GS, Ghione E, Vitale R, Peverelli L, Brogna C, Berardinelli A, Moggio M, Mercuri EM, Pichiecchio A.

Value of structured reporting in neuromuscular disorders.

Radiol Med. 2019 Jul;124(7):628-635. doi: 10.1007/s11547-019-01012-0. Epub 2019 Mar 9.

PMID: 30852791

IF: 1.420

Riassunto:

Il lavoro si proponeva di valutare se i referti strutturati (SR) di RMN nei pazienti con disturbi neuromuscolari ereditari (IND) forniscono informazioni clinicamente più rilevanti rispetto ai referti non strutturati (NSR) e se l'esperienza dei neuroradiologi influisce sulla completezza dei rapporti. Sono state presi in considerazione referti di risonanza magnetica degli arti inferiori di pazienti con IND prodotti da neuroradiologi con diversi livelli di esperienza (> 15 anni contro <15 anni di esperienza nella lettura di IND-MRI) prima e dopo l'implementazione di un modello SR. I referti sono stati giudicati da neurologi esperti sulla base di 9 punti chiave. Risultati: Sono stati valutati 31 rSR e 101 NSR. Una mediana di 8 e 6 punti chiave era presente rispettivamente in SR e NSR (valore p <0,0001). Quando i neuroradiologi meno

esperti hanno prodotto i referti, i neurologi hanno riconosciuto il modello di coinvolgimento muscolare, avevano informazioni sufficienti per il processo decisionale clinico / esecuzione della biopsia più spesso con SR rispetto a NSR (valori p: <0,0001) e necessitavano di valutare le immagini meno spesso con SR (valore p: 0,0001). Quando sono state valutate le relazioni prodotte da neuroradiologi esperti, non è stata osservata alcuna differenza significativa nelle risposte dei neurologi. In conclusione, SR relativi a Rm di IND contenevano più spesso informazioni clinicamente rilevanti rispetto a NSR. L'esperienza del radiologo influisce sulla completezza dei rapporti NSR.

Verrigni D, Di Nottia M, Ardisson A, Baruffini E, Nasca A, Legati A, Bellacchio E, Fagiolari G, Martinelli D, Fusco L, Battaglia D, Trani G, Versienti G, Marchet S, Torraco A, Rizza T, Verardo M, D'Amico A, Diodato D, Moroni I, Lamperti C, Petrini S, Moggio M, Goffrini P, Ghezzi D, Carozzo R, Bertini E.

Clinical-genetic features and peculiar muscle histopathology in infantile DNM1L-related mitochondrial epileptic encephalopathy.

Hum Mutat. 2019 May;40(5):601-618. doi: 10.1002/humu.23729. Epub 2019 Mar 9.

PMID: 30801875

IF: 4.453

I mitocondri sono organelli altamente dinamici, sottoposti a processi continui di fissione e fusione. Il gene DNM1L (dynamin-1 like) codifica la proteina DRP1, una componente evolutiva conservata della famiglia della dinamina, responsabile della fissione dei mitocondri e che ha un ruolo anche nella divisione dei perossisomi. La compromissione di DRP1 è implicata in numerosi disturbi neurologici ed è associata alla comparsa di mutazioni de novo dominanti o composte eterozigoti. In cinque pazienti che presentavano una grave encefalopatia epilettica, abbiamo identificato cinque varianti DNM1L dominanti de novo, la cui patogenicità è stata validata in un modello di lievito. La microscopia a fluorescenza ha rivelato mitocondri allungati in modo abnorme e perossisomi aberranti nei fibroblasti mutati, indicando una fissione alterata di questi organelli. Inoltre, un risultato molto peculiare è stato il riscontro, nella biopsia muscolare, di aree core-like con associate alterazioni enzimatiche ossidative, suggerendo una distribuzione anomala dei mitocondri nel tessuto muscolare.

Baiardi S, Redaelli V, Ripellino P, Rossi M, Franceschini A, Moggio M, Sola P, Ladogana A, Fociani P, Magherini A, Capellari S, Giese A, Caughey B, Caroppo P, Parchi P.

Prion-related peripheral neuropathy in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease.

J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2019 Apr;90(4):424-427. doi: 10.1136/jnnp-2018-319221.

PMID: 30355606

IF: 8.327

Scopo del lavoro era valutare se il coinvolgimento del sistema nervoso periferico (SNP) appartiene allo spettro fenotipico della malattia di Creutzfeldt-Jakob sporadica (sCJD). Sono state esaminate le cartelle cliniche di 117 soggetti sCJDV2 (tipo atassico), 65 sCJDMV2K (tipo kuru-plaque) e 121 sCJDV (tipo mioclonico) per la valutazione di sintomi clinici, segni obiettivi e dati neurofisiologici. Sono state esaminate due biopsie di nervo effettuate a scopo diagnostico ed esaminati campioni post-mortem PNS di 14 soggetti al fine di cercare una proteina prionica anormale (PrPSc) mediante western blotting e real-time quaking-induced conversion (RT-QuIC).

Settantacinque (41,2%) pazienti V2-MV2K, ma solo 11 (9,1%) MM (V) 1, presentavano sintomi o segni indicativi di coinvolgimento del PNS che si manifestava all'esordio in 18 casi (17 V2-MV2K, 9,3%; e 1 MM (V) 1, 0,8%) e isolato in 6. La biopsia di nervo periferico ha

mostrato una neuropatia mista prevalentemente assonale in due sCJDM. L'elettromiografia ha mostrato segni di neuropatia nella metà dei pazienti VV2-MV2K esaminati. Prion RT-QuIC è risultata positiva nel SNP di tutti i campioni di CJD, mentre il Western Blot ha rilevato PrPSc nel nervo sciatico in un VV2 e un MV2K.V2K. La neuropatia periferica, probabilmente correlata alla deposizione di PrPSc, appartiene allo spettro fenotipico di sCJDMV2K e VV2 e può segnarne l'esordio. Vi è una prevalenza significativamente più bassa del coinvolgimento del PNS nel tipico Scjdmm

UOSD MALATTIE NEURODEGENERATIVE

Centro per lo studio, la diagnosi e la terapia dei disturbi cognitivi e della memoria "Unità Valutativa Alzheimer -U.V.A."

Centro per lo studio, la diagnosi e la terapia della Sclerosi Multipla

<u>Direttore:</u> Prof. Elio Scarpini	Professore Associato di Neurologia
Dott.ssa Daniela Galimberti	RTDB Università di Milano
Dott.ssa Chiara Fenoglio	Tecnico Laureato Università di Milano
Dott.ssa Maria Serpente	Assegnista Università di Milano
Dott.ssa Marina Arcaro	Biotechnologa-Co.co.co Fondazione IRCCS Policlinico
Dott.ssa Marianna D'Anca	Assegnista Università di Milano
Dott.ssa Lorenza Anna Caracciolo	Biotechnologa-Borsista Fondazione IRCCS Policlinico
Dott.ssa Federica Sorrentino	Biologa-Borsista Fondazione IRCCS Policlinico
Dott.ssa Milena De Riz	Neurologa Specialista – Dirigente medico Fondazione IRCCS Policlinico
Dott.ssa Anna Pietroboni	Neurologa Specialista – Dirigente medico Fondazione IRCCS Policlinico
Dott. Andrea Arighi	Neurologo Specialista – Dirigente medico Fondazione IRCCS Policlinico
Dott. Giorgio Fumagalli	Neurologo Specialista- co.co.co Fondazione IRCCS Policlinico
	Dott.ssa Laura Ghezzi Assegnista Università di Milano - Neurologa Specialista - co.co.co Fondazione IRCCS Policlinico
	Dott.ssa Marta Scarioni Assegnista Università di Milano - Neurologa Specialista - co.co.co Fondazione IRCCS Policlinico
Dott.ssa Tiziana Carandini	Medico Specializzando
Dott.ssa Annalisa Colombi	Medico Specializzando
Dott. Roberto Vimercati	Dirigente Psicologo Fondazione IRCCS Policlinico – co.co.co

Dr.ssa Emanuela Rotondo	Dirigente Policlinico	Psicologo – co.co.co	Fondazione	IRCCS
Dott. Matteo Mercurio	Dirigente Policlinico	Psicologo – co.co.co	Fondazione	IRCCS
Dott.ssa Sara Forti	Psicologa Policlinico	– Borsista	Fondazione	IRCCS
Dott.ssa Giulia Giardinieri	Psicologa Policlinico	– Borsista	Fondazione	IRCCS
Sig.ra Daniela Da Lisca	Segretaria Policlinico	– co.co.co	Fondazione	IRCCS
Sig. Marco Milianti Policlinico	Segretario	– Borsista	Fondazione	IRCCS

1 - ATTIVITÀ CLINICA ED ASSISTENZIALE

Dal punto di vista clinico, il gruppo si è occupato di ricerche cliniche nel campo della Sclerosi Multipla e della malattia di Alzheimer e demenze correlate (demenza Frontotemporale, demenza a corpi di Lewy). I pazienti sono stati seguiti dai componenti del gruppo presso i seguenti Ambulatori Specialistici di “secondo livello”:

1.1. Ambulatorio Malattie Demielinizzanti del Sistema Nervoso Centrale

Nel corso dell'anno 2019 sono giunti all'ambulatorio per le Malattie Demielinizzanti circa 150 nuovi pazienti.

Il numero totale di visite nel corso del 2019 è stato di più di 800 in ambulatori dedicati alla Sclerosi Multipla, attivi tutti i giorni sia al mattino che al pomeriggio.

È operativo un servizio di “Macro Attività Complessa” (MAC) per consentire ai pazienti di sottoporsi a trattamenti quali la somministrazione di cortisonici ad alto dosaggio e. v. e l'infusione di Immunoglobuline e.v. nonché di effettuare tutte le procedure diagnostiche. Sono stati effettuati circa 500 ricoveri in regime di MAC.

Il Servizio è riconosciuto tra i Centri Provinciali autorizzati dalla Regione Lombardia alla dispensazione di: beta-Interferone Ia e Ib, Copaxone (glatiramer acetato), Tysabri (Natalizumab), Gylenia (Fingolimod), Tecfidera (Dimetilfumarato), Aubagio (Teriflunomide), Lemtrada (Alemtuzumab), Ocrelizumab. In dettaglio, sono al momento registrati in File F per il trattamento 324 pazienti.

1.2. Ambulatorio per la Diagnosi e la Terapia dei Disturbi Cognitivi e della Memoria

Nel corso dell'anno sono giunti all'ambulatorio per la Diagnosi e la Terapia dei Disturbi Cognitivi e della Memoria circa 200 nuovi pazienti. Complessivamente sono state eseguite circa 1500 visite, in ambulatori attivi dal lunedì al venerdì, sia la mattina che il pomeriggio.

Sono stati effettuati circa 200 ricoveri in regime di MAC per accertamenti diagnostici.

Dall'ottobre 2000 il Centro è stato riconosciuto da parte della Regione Lombardia come “Unità Valutazione Alzheimer” (U.V.A) ed inserito nel Progetto CRONOS del Ministero della Sanità. Presso tale Centro afferiscono pazienti con sospetto decadimento cognitivo, inviati dal medico di base o dallo specialista, onde essere sottoposti ad un inquadramento diagnostico rivolto alla malattia di Alzheimer e demenze correlate, ai fini dell'inserimento nel progetto CRONOS che prevede l'erogazione gratuita dei nuovi farmaci anticolinesterasici. Ad oggi, risultano al momento registrati per terapia con anticolinesterasici 225 pazienti. Inoltre, alcuni pazienti sono registrati in File F per trattamento con memantina (Ebixa).

Riguardo gli esami diagnostici per Sclerosi Multipla, malattia di Alzheimer e Degenerazione Lobare Frontotemporale, sono state effettuate le seguenti prestazioni (sia per pazienti degenti che richieste da ospedali esterni):

- esame liquor, IEF per diagnosi di sclerosi multipla: circa 200
- dosaggio Amiloide, Tau totale e fosforilata nel liquor per diagnosi Alzheimer: circa 200
- progranulina plasmatica: circa 100
- estrazione DNA, mutazioni MAPT, progranulina, C9ORF72, PS1 e 2, APP, PRNP: circa 100.

2. SPERIMENTAZIONI CLINICHE (multicentriche, randomizzate)

Transition: A two-year observational study to evaluate the safety profile of fingolimod in patients with Multiple Sclerosis who switch from natalizumab to fingolimod, Novartis, prot. CFTY720D2405

A multicenter, randomized, double-blind, parallel-group, placebo-controlled variable treatment duration study evaluating the efficacy and safety of Siponimod (BAF312) in patients with secondary progressive Multiple Sclerosis, Novartis, prot. CBAF312A2304

A Phase 2/3, Multi-Center, Randomized, Double-Blind, placebo-controlled (Part A) and double-blind, double-dummy, active-controlled (Part B), parallel group study to evaluate the efficacy and safety of RPC1063 administered orally to relapsing Multiple Sclerosis patients, Receptos, prot. RPC1063

A Placebo-controlled, double-blind, parallel-group, Bayesian Adaptive randomization design and dose Regimen-finding Study to evaluate safety, tolerability and efficacy of BAN2401 in subjects with Early Alzheimer's Disease, Eisai, prot. BAN2401

An open-label study to evaluate the efficacy and safety of Ocrelizumab in patients with Relapsing Remitting Multiple Sclerosis who have a suboptimal response to an adequate course of disease-modifying treatment (MA30005)

A phase 2 Multiple Dose, Multicenter, Randomized, double-blind, placebo-controlled study to evaluate the efficacy and safety of ABBV-8E12 in subjects with Early Alzheimer's Disease

A randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel group study to evaluate the efficacy and safety of CNP520 in participants at risk for the onset of clinical symptoms of Alzheimer's Disease (AD)

A placebo-controlled, double-blind, parallel-group, 24-month study to evaluate the efficacy and safety of E2609 in subjects with early Alzheimer's Disease

A phase 3, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-design study to assess the efficacy, safety and tolerability of AVP-786 for the treatment of agitation in patients with dementia of the Alzheimer's type

A single arm, open label multicenter extension study to evaluate the effectiveness and safety of ocrelizumab in patients with multiple sclerosis previously enrolled in a F.Hoffman-La Roche sponsored ocrelizumab phase IIIb/IV clinical trial

An extension study of ABBV-8E12 in early Alzheimer's disease - M15-570 (extension ABBVIE phase 2)

3. ATTIVITÀ DI RICERCA DI BASE

È attualmente presente presso la UOSD Malattie Neurodegenerative e Demielinizzanti una banca biologica comprendente:

- 1) circa 6000 campioni di DNA. Le patologie più rappresentate sono:
 - 600 pazienti con diagnosi di Malattia di Alzheimer
 - 800 con altri tipi di demenza (Degenerazione Lobare Frontotemporale, demenza a corpi di Lewy, demenza vascolare, paralisi sopranucleare progressiva, degenerazione corticobasale)
 - 1300 con diagnosi di Sclerosi Multipla
 - 2) circa 1200 campioni di liquido cerebrospinale, siero e plasma. Tra questi:
 - 500 pazienti con Sclerosi Multipla
 - 500 con patologie neurodegenerative (prevalentemente malattia di Alzheimer)
 - 3) circa 700 cDNA ricavati da RNA estratto da cellule del sangue
- Nel corso del 2019 l'attività del gruppo si è articolata sulle seguenti tematiche:

1) Isolamento di vescicole extracellulari di origine neuronale da plasma di pazienti con malattia di Alzheimer e Demenza Frontotemporale

Durante il corso del 2019 è stata completata la parte di caratterizzazione delle vescicole di derivazione neuronale e conclusa una prima fase di analisi del contenuto in RNA non codificanti nelle medesime. La parte di caratterizzazione è avvenuta mediante l'utilizzo di citofluorimetria, western blot per il marcatore neuronale, nanoparticle tracking analysis per la conta e determinazione del diametro delle vescicole, microscopia elettronica per la morfologia. La molteplicità delle tecniche utilizzate ha permesso di tracciare con precisione l'origine di tale vescicole, questo aspetto è stato determinante per poter successivamente determinare l'esatta provenienza delle molecole investigate in tali vescicole. In particolare, è stato determinato il cargo di RNA non codificanti quali microRNA (miRNA) e long non coding RNA (LncRNA) che sono noti modulatori trascrizionali di numerosi geni tra i quali anche geni propriamente implicati nella patogenesi della SM e delle patologie neurodegenerative. Tali molecole sono considerate da diverse evidenze sperimentali come possibili marcatori in patologie di varia natura ed eziogenesi. Lo scopo di questo filone di ricerca è stato quello di verificare la funzione e il livello di espressione di queste molecole al fine di stabilire la loro possibile utilità come predittori del decorso della patologia e nella risposta ai trattamenti immunomodulanti nel caso della SM e come biomarcatori per la diagnosi differenziale nell'ambito delle patologie neurodegenerative. Il vantaggio generale di utilizzare tali vescicole è di essere facilmente isolabili dal sangue e contemporaneamente di riflettere la composizione delle cellule del cervello che li originano.

2) Ruolo del danno della sostanza bianca in pazienti con malattia di Alzheimer

Correlazione tra il danno della sostanza bianca valutato con tecniche di imaging e i livelli liquorali di proteina amiloide in pazienti con malattia di Alzheimer

3) PET amiloide nella Sclerosi Multipla

Utilizzo del tracciante PET-fluorbetapir per l'identificazione precoce del danno della sostanza bianca in pazienti con sclerosi multipla e correlazione con i livelli liquorali di proteina beta amiloide

4) Dosaggio di AQP4 nei soggetti affetti da demenza: studio del sistema glinfatico nelle patologie neurodegenerative.

Recentemente è stato intrapreso uno studio sui livelli della proteina Aquaporin 4 (AQP4) nel liquido cerebrospinale (CSF) di soggetti affetti da demenza. AQP4 è una proteina canale del calcio localizzata nei peduncoli astrocitari, strutture che regolano il corretto funzionamento del sistema glinfatico. Tale sistema permette il corretto trasporto e ricircolo del CSF nelle zone del parenchima cerebrale. Recentemente è stato ipotizzato che sia anche implicato nella malattia di Alzheimer in quanto vi sarebbe una scorretta localizzazione di AQP4 età-dipendente in grado di rallentare il funzionamento di tale sistema e di promuovere l'aggregazione di proteine patogenetiche e la conseguente neurodegenerazione. Dati preliminari dal nostro laboratorio hanno permesso di determinare ridotti livelli di proteina AQP4 in una coorte di soggetti AD rispetto alla popolazione controllo ed una significativa correlazione tra tali livelli e i livelli di proteina Beta amiloide del CSF. Tali evidenze confermano un ruolo di AQP4 ed un possibile conseguente difetto di funzione del sistema glinfatico nell'AD.

5) Ruolo di NPC come fattore genetico nella malattia di Alzheimer nelle demenze correlate

Nel corso del 2019 si è intrapreso lo studio genetico di *NPC* come fattore di rischio di malattie neurodegenerative. E' stato recentemente dimostrato come varianti in eterozigosi del gene *NPC* siano in grado di influenzare l'insorgenza di patologie neurodegenerative. Mutazioni di *NPC* causano la malattia di Niemann-Pick di tipo C, patologia autosomica recessiva dovuta ad un non corretto smaltimento e conseguente accumulo dei lipidi. Mediante sequenziamento targettato di nuova generazione (NGS) è stato disegnato un pannello contenente 7 geni di cui 5 responsabili delle forme di demenza genetiche (*PSEN1*, *PSEN2*, *APP*, *GRN*, *MAPT*) e i geni *NPC-1* e *NPC-2*. Tale pannello è stato utilizzato per lo screening di 144 soggetti affetti da demenza con positività liquorale di proteina Beta amiloide. I risultati hanno permesso di evidenziare la presenza delle seguenti varianti patogenetiche in eterozigosi in 6 soggetti affetti da malattie neurodegenerative sia in *NPC1* che in *NPC2*. In particolare, è stata riscontrata una nuova variante patogenetica in *NPC2*, *Y570H*, in un soggetto affetto da AD. Si sta attualmente procedendo allo screening di questa variante in una popolazione di 300 soggetti sani per escludere che possa trattarsi di un polimorfismo raro.

I progetti di ricerca sono stati sviluppati grazie alla collaborazione con Centri sia italiani che stranieri.

Tra i primi vi sono:

- Prof. Adriana Maggi, Centro di Biotecnologie Farmacologiche, Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università di Milano
- Dott. Gianluigi Forloni, Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri, Milano
- Prof. Stefano Cappa, Università di Pavia
- Prof. Alessandro Padovani, Università di Brescia
- Prof. Innocenzo Rainero, Università di Torino
- Prof. Claudio Franceschi, Università di Torino
- Dott. Claudia Verderio, CNR, Milano

Tra i centri esteri:

- Dr. Robert P. Lisak, Dip. di Neurologia, Detroit, USA
- Prof. Philip Scheltens, Dr. Yolande Pijnenburg, Dept. of Neurology, VU University Medical Center, Amsterdam, The Netherlands
- Prof. Janine Diehl-Schmid, Technical University of Munich, Munich, Germany
- Prof. Simon Ducharme McGill University, Montreal, Canada

- Prof. Glenda Halliday, University of Sydney, Australia
- Dr. Anne Cross, University of Saint Louis, USA
- Prof. Jean Charles Lambert, Lille, France
- Dr. Jonathan Rohrer, UCL, London, UK
- Prof. An Goris, University of Leuven, Belgium
- Dr. Manuel Comabella, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

Inoltre, il gruppo ha contribuito a consorzi internazionali per studi su popolazioni di pazienti con:

- Malattia di Alzheimer (IGAP: International Genomics of Alzheimer's Disease Project).
- Demenza Frontotemporale (GENFI: GENetics of Frontotemporal dementia Initiative)
- Sclerosi Multipla (IMSC: International Multiple Sclerosis Collaboration).

4. PUBBLICAZIONI SU RIVISTE INTERNAZIONALI CENSITE 2019

Delvecchio G, Rossetti MG, Caletti E, Arighi A, Galimberti D, Basilico P, Mercurio M, Paoli RA, Cinnante C, Triulzi F, Altamura AC, Scarpini E, Brambilla P.

The Neuroanatomy of Somatoform Disorders: A Magnetic Resonance Imaging Study.

Psychosomatics 2019;60(3):278-88.

IF=1,541

Pietroboni AM, Caprioli M, Carandini T, Scarioni M, Ghezzi L, Arighi A, Cioffi S, Cinnante C, Fenoglio C, Oldoni E, De Riz MA, Basilico P, Fumagalli GG, Colombi A, Giulietti G, Serra L, Triulzi F, Bozzali M, Scarpini E, Galimberti D.

CSF β -amyloid predicts prognosis in patients with multiple sclerosis.

Multiple Sclerosis 2019; 25(9):1223-31.

IF=5,649

Pietroboni AM, Carandini T, Colombi A, Mercurio M, Ghezzi L, Giulietti G, Scarioni M, Arighi A, Fenoglio C, De Riz MA, Fumagalli GG, Basilico P, Serpente M, Bozzali M, Scarpini E, Galimberti D, Marotta G.

Amyloid PET as a marker of normal-appearing white matter early damage in multiple sclerosis: correlation with CSF β -amyloid levels and brain volumes.

European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging 2019;46:280-7.

IF=7,182

Cury C, Durrleman S, Cash DM, Lorenzi M, Nicholas JM, Bocchetta M, van Swieten JC, Borroni B, Galimberti D, Masellis M, Tartaglia MC, Rowe JB, Graff C, Tagliavini F, Frisoni GB, Laforce R Jr, Finger E, de Mendonça A, Sorbi S, Ourselin S, Rohrer JD, Modat M;

Genetic FTD Initiative, GENFI. Spatiotemporal analysis for detection of pre-symptomatic shape changes in neurodegenerative diseases: Initial application to the GENFI cohort.

Neuroimage 2019;88:282-90.

IF=5,812

Swarup V, Hinz FI, Rexach JE, Noguchi KI, Toyoshiba H, Oda A, Hirai K, Sarkar A, Seyfried NT, Cheng C, Haggarty SJ; International Frontotemporal Dementia Genomics Consortium (including Galimberti D), Grossman M, Van Deerlin VM, Trojanowski JQ, Lah JJ, Levey AI, Kondou S, Geschwind DH. Identification of evolutionarily conserved gene networks mediating neurodegenerative dementia. *Nature Medicine* 2019;25(1):152-64.

Rittman T, Borchert R, Jones S, van Swieten J, Borroni B, Galimberti D, Masellis M, Tartaglia MC, Graff C, Tagliavini F, Frisoni GB, Laforce R Jr, Finger E, Mendonça A, Sorbi S, Rohrer JD, Rowe JB;

Genetic Frontotemporal Dementia Initiative (GENFI). Functional network resilience to pathology in presymptomatic genetic frontotemporal dementia.

Neurobiology of Aging 2019;77:169-77.IF=4,398

Kunkle BW, Grenier-Boley B, Sims R, Bis JC, Damotte V, Naj AC, Boland A, Vronskaya M, van der Lee SJ, Amlie-Wolf A, Bellenguez C, Frizatti A, Chouraki V, Martin ER, Sleegers K, Badarinarayan N, Jakobsdottir J, Hamilton-Nelson KL, Moreno-Grau S, Olosa R, Raybould R, Chen Y, Kuzma AB, Hiltunen M, Morgan T, Ahmad S, Vardarajan BN, Epelbaum J, Hoffmann P, Boada M, Beecham GW, Garnier JG, Harold D, Fitzpatrick AL, Valladares O, Moutet ML, Gerrish A, Smith AV, Qu L, Bacq D, Denning N, Jian X, Zhao Y, Del Zompo M, Fox NC, Choi SH, Mateo I, Hughes JT, Adams HH, Malamon J, Sanchez-Garcia F, Patel Y, Brody JA, Dombroski BA, Naranjo MCD, Daniilidou M, Eiriksdottir G, Mukherjee S, Wallon D, Uphill J, Aspelund T, Cantwell LB, Garzia F, Galimberti D, Hofer E, Butkiewicz M, Fin B, Scarpini E, Sarnowski C, Bush WS, Meslage S, Kornhuber J, White CC, Song Y, Barber RC, Engelborghs S, Sordon S, Voijnovic D, Adams PM, Vandenberghe R, Mayhaus M, Cupples LA, Albert MS, De Deyn PP, Gu W, Himali JJ, Beekly D, Squassina A, Hartmann AM, Orellana A, Blacker D, Rodriguez-Rodriguez E, Lovestone S, Garcia ME, Doody RS, Munoz-Fernandez C, Sussams R, Lin H, Fairchild TJ, Benito YA, Holmes C, Karamujić-Čomić H, Frosch MP, Thonberg H, Maier W, Roschupkin G, Ghatti B, Giedraitis V, Kawalia A, Li S, Huebinger RM, Kilander L, Moebus S, Hernández I, Kamboh MI, Brundin R, Turton J, Yang Q, Katz MJ, Concar L, Lord J, Beiser AS, Keene CD, Helisalmi S, Kloszewska I, Kukull WA, Koivisto AM, Lynch A, Tarraga L, Larson EB, Haapasalo A, Lawlor B, Mosley TH, Lipton RB, Solfrizzi V, Gill M, Longstreth WT Jr, Montine TJ, Frisardi V, Diez-Fairen M, Rivadeneira F, Petersen RC, Deramecourt V, Alvarez I, Salani F, Ciarabella A, Boerwinkle E, Reiman EM, Fievet N, Rotter JI, Reisch JS, Hanon O, Cupidi C, Andre Uitterlinden AG, Royall DR, Dufouil C, Maletta RG, de Rojas I, Sano M, Brice A, Cecchetti R, George-Hyslop PS, Ritchie K, Tsolaki M, Tsuang DW, Dubois B, Craig D, Wu CK, Soininen H, Avramidou D, Albin RL, Fratiglioni L, Germanou A, Apostolova LG, Keller L, Koutroumani M, Arnold SE, Panza F, Gkatzima O, Asthana S, Hannequin D, Whitehead P, Atwood CS, Caffarra P, Hampel H, Quintela I, Carracedo Á, Lannfelt L, Rubinsztein DC, Barnes LL, Pasquier F, Frölich L, Barral S, McGuinness B, Beach TG, Johnston JA, Becker JT, Passmore P, Bigio EH, Schott JM, Bird TD, Warren JD, Boeve BF, Lupton MK, Bowen JD, Proitsi P, Boxer A, Powell JF, Burke JR, Kauwe JSK, Burns JM, Mancuso M, Buxbaum JD, Bonuccelli U, Cairns NJ, McQuillin A, Cao C, Livingston G, Carlson CS, Bass NJ, Carlsson CM, Hardy J, Carney RM, Bras J, Carrasquillo MM, Guerreiro R, Allen M, Chui HC, Fisher E, Masullo C, Crocco EA, DeCarli C, Bisceglia G, Dick M, Ma L, Duara R, Graff-Radford NR, Evans DA, Hodges A, Faber KM, Scherer M, Fallon KB, Riemenschneider M, Fardo DW, Heun R, Farlow MR, Kölsch H, Ferris S, Leber M, Foroud TM, Heuser I, Galasko DR, Giegling I, Gearing M, Hüll M, Geschwind DH, Gilbert JR, Morris J, Green RC, Mayo K, Growdon JH, Feulner T, Hamilton RL, Harrell LE, Drichel D, Honig LS, Cushion TD, Huentelman MJ, Hollingworth P, Huette CM, Hyman BT, Marshall R, Jarvik GP, Meggy A, Abner E, Menzies GE, Jin LW, Leonenko G, Real LM, Jun GR, Baldwin CT, Grozeva D, Karydas A, Russo G, Kaye JA, Kim R, Jessen F, Kowall NW, Vellas B, Kramer JH, Vardy E, LaFerla FM, Jöckel KH, Lah JJ, Dichgans M, Leverenz JB, Mann D, Levey AI, Pickering-Brown S, Lieberman AP, Klopp N, Lunetta KL, Wichmann HE, Lyketsos CG, Morgan K, Marson DC, Brown

K, Martiniuk F, Medway C, Mash DC, Nöthen MM, Masliah E, Hooper NM, McCormick WC, Daniele A, McCurry SM, Bayer A, McDavid AN, Gallacher J, McKee AC, van den Bussche H, Mesulam M, Brayne C, Miller BL, Riedel-Heller S, Miller CA, Miller JW, Al-Chalabi A, Morris JC, Shaw CE, Myers AJ, Wiltfang J, O'Bryant S, Olichney JM, Alvarez V, Parisi JE, Singleton AB, Paulson HL, Collinge J, Perry WR, Mead S, Peskind E, Cribbs DH, Rossor M, Pierce A, Ryan NS, Poon WW, Nacmias B, Potter H, Sorbi S, Quinn JF, Sacchinelli E, Raj A, Spalletta G, Raskind M, Caltagirone C, Bossù P, Orfei MD, Reisberg B, Clarke R, Reitz C, Smith AD, Ringman JM, Warden D, Roberson ED, Wilcock G, Rogaeva E, Bruni AC, Rosen HJ, Gallo M, Rosenberg RN, Ben-Shlomo Y, Sager MA, Mecocci P, Saykin AJ, Pastor P, Cuccaro ML, Vance JM, Schneider JA, Schneider LS, Slifer S, Seeley WW, Smith AG, Sonnen JA, Spina S, Stern RA, Swerdlow RH, Tang M, Tanzi RE, Trojanowski JQ, Troncoso JC, Van Deerlin VM, Van Eldik LJ, Vinters HV, Vonsattel JP, Weintraub S, Welsh-Bohmer KA, Wilhelmsen KC, Williamson J, Wingo TS, Woltjer RL, Wright CB, Yu CE, Yu L, Saba Y; Alzheimer Disease Genetics Consortium (ADGC); European Alzheimer's Disease Initiative (EADI); Cohorts for Heart and Aging Research in Genomic Epidemiology Consortium (CHARGE); Genetic and Environmental Risk in AD/Defining Genetic, Polygenic and Environmental Risk for Alzheimer's Disease Consortium (GERAD/PERADES), Pilotto A, Bullido MJ, Peters O, Crane PK, Bennett D, Bosco P, Coto E, Boccardi V, De Jager PL, Lleo A, Warner N, Lopez OL, Ingelsson M, Deloukas P, Cruchaga C, Graff C, Gwilliam R, Fornage M, Goate AM, Sanchez-Juan P, Kehoe PG, Amin N, Ertekin-Taner N, Berr C, DeBette S, Love S, Launer LJ, Younkin SG, Dartigues JF, Corcoran C, Ikram MA, Dickson DW, Nicolas G, Champion D, Tschanz J, Schmidt H, Hakonarson H, Clarimon J, Munger R, Schmidt R, Farrer LA, Van Broeckhoven C, C O'Donovan M, DeStefano AL, Jones L, Haines JL, Deleuze JF, Owen MJ, Gudnason V, Mayeux R, Escott-Price V, Psaty BM, Ramirez A, Wang LS, Ruiz A, van Duijn CM, Holmans PA, Seshadri S, Williams J, Amouyel P, Schellenberg GD, Lambert JC, Pericak-Vance MA.

Genetic meta-analysis of diagnosed Alzheimer's disease identifies new risk loci and implicates A β , tau, immunity and lipid processing.

Nature Genetics 2019;51(3):414-30.

IF=25,455

Premi E, Calhoun VD, Diano M, Gazzina S, Cosseddu M, Alberici A, Archetti S, Paternicò D, Gasparotti R, van Swieten J, Galimberti D, Sanchez-Valle R, Laforce R Jr, Moreno F, Synofzik M, Graff C, Masellis M, Tartaglia MC, Rowe J, Vandenberghe R, Finger E, Tagliavini F, de Mendonça A, Santana I, Butler C, Ducharme S, Gerhard A, Danek A, Levin J, Otto M, Frisoni G, Cappa S, Sorbi S, Padovani A, Rohrer JD, Borroni B; Genetic FTD Initiative, GENFI.

The inner fluctuations of the brain in presymptomatic Frontotemporal Dementia: The chronectome fingerprint.

Neuroimage 2019;189:645-54. IF=5,812

Gallucci M, Dell'Acqua C, Bergamelli C, Fenoglio C, Serpente M, Galimberti D, Fiore V, Medea S, Gregianin M, Di Battista ME. A Case with Early Onset Alzheimer's Disease, Frontotemporal Hypometabolism, ApoE Genotype ϵ 4/ ϵ 4 and C9ORF72 Intermediate Expansion: A Treviso Dementia (TREDEM) Registry Case Report.

Journal of Alzheimer's Disease 2019;67(3):985-93.

IF=3,517

Dalmaso MC, Brusco LI, Olivar N, Muchnik C, Hanses C, Milz E, Becker J, Heilmann-Heimbach S, Hoffmann P, Prestia FA, Galeano P, Avalos MSS, Martinez LE, Carulla ME, Azurmendi PJ, Liberczuk C, Fezza C, Sampaño M, Fierens M, Jemar G, Solis P,

Medel N, Lisso J, Sevillano Z, Bosco P, Bossù P, Spalletta G, Galimberti D, Mancuso M, Nacmias B, Sorbi S, Mecocci P, Pilotto A, Caffarra P, Panza F, Bullido M, Clarimon J, Sánchez-Juan P, Coto E, Sanchez-Garcia F, Graff C, Ingelsson M, Bellenguez C, Castaño EM, Kairiyama C, Politis DG, Kochen S, Scaro H, Maier W, Jessen F, Mangone CA, Lambert JC, Morelli L, Ramirez A. Transethnic meta-analysis of rare coding variants in PLCG2, ABI3, and TREM2 supports their general contribution to Alzheimer's disease.

Translational Psychiatry 2019;9(1):55.

IF=5,182

Galimberti D, Fenoglio C, Ghezzi L, Serpente M, Arcaro M, D'Anca M, De Riz M, Arighi A, Fumagalli GG, Pietroboni AM, Piccio L, Scarpini E.

Inflammatory expression profile in peripheral blood mononuclear cells from patients with Nasu-Hakola Disease.

Cytokine 2019;116:115-9. IF=3,078

Fumagalli GG, Sacchi L, Basilico P, Arighi A, Carandini T, Scarioni M, Colombi A, Pietroboni A, Ghezzi L, Fenoglio C, Serpente M, D'anca M, Arcaro M, Mercurio M, Triulzi F, Scola E, Marotta G, Scarpini E, Galimberti D.

Monozygotic Twins with Frontotemporal Dementia Due To Thr272fs GRN Mutation Discordant for Age At Onset.

Journal of Alzheimer's Disease 2019;67(4):1173-9.

IF=3,517

Mutsaerts HJMM, Mirza SS, Petr J, Thomas DL, Cash DM, Bocchetta M, de Vita E, Metcalfe AWS, Shirzadi Z, Robertson AD, Tartaglia MC, Mitchell SB, Black SE, Freedman M, Tang-Wai D, Keren R, Rogaeva E, van Swieten J, Laforce R, Tagliavini F, Borroni B, Galimberti D, Rowe JB, Graff C, Frisoni GB, Finger E, Sorbi S, de Mendonça A, Rohrer JD, MacIntosh BJ, Masellis M;

GENFI consortium . Cerebral perfusion changes in presymptomatic genetic frontotemporal dementia: a GENFI study.

Brain 2019;142(4):1108-20.

IF=11,814

Gazzina S, Grassi M, Premi E, Cosseddu M, Alberici A, Archetti S, Gasparotti R, Van Swieten J, Galimberti D, Sanchez-Valle R, Laforce RJ, Moreno F, Synofzik M, Graff C, Masellis M, Tartaglia MC, Rowe JB, Vandenberghe R, Finger E, Tagliavini F, de Mendonça A, Santana I, Butler CR, Ducharme S, Gerhard A, Danek A, Levin J, Otto M, Frisoni G, Sorbi S, Padovani A, Rohrer JD, Borroni B;

Genetic FTD Initiative, GENFI. Education modulates brain maintenance in presymptomatic frontotemporal dementia.

Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry 2019;90(10):1124-30.

IF=8,327

Marchi C, Adorni MP, Caffarra P, Ronda N, Spallazzi M, Barocco F, Galimberti D, Bernini F, Zimetti F.

ABCA1- and ABCG1-mediated cholesterol efflux capacity of cerebrospinal fluid is impaired in Alzheimer's disease.

Journal of Lipid Research 2019 60(8):1449-56. IF=4,743

Arighi A, Di Cristofori A, Fenoglio C, Borsa S, D'Anca M, Fumagalli GG, Locatelli M, Carrabba G, Pietroboni AM, Ghezzi L, Carandini T, Colombi A, Scarioni M, De Riz MA, Serpente M, Rampini PM, Scarpini E, Galimberti D.

Cerebrospinal Fluid Level of Aquaporin4: A New Window on Glymphatic System Involvement in Neurodegenerative Disease?

Journal Alzheimers Disease 2019;69(3):663-9.

IF=3,517

Gallucci M, Dell'Acqua C, Boccaletto F, Fenoglio C, Galimberti D, Di Battista ME.

Overlap Between Frontotemporal Dementia and Dementia with Lewy Bodies: A Treviso Dementia (TREDEM) Registry Case Report.

Journal Alzheimers Disease 2019;69(3):83947.

IF=3,517

Meeter LHH, Steketee RME, Salkovic D, Vos ME, Grossman M, McMillan CT, Irwin DJ, Boxer AL, Rojas JC, Olney NT, Karydas A, Miller BL, Pijnenburg YAL, Barkhof F, Sánchez-Valle R, Lladó A, Borrego-Ecija S, Diehl-Schmid J, Grimmer T, Goldhardt O, Santillo AF, Hansson O, Vestberg S, Borroni B, Padovani A, Galimberti D, Scarpini E, Rohrer JD, Woollacott IOC, Synofzik M, Wilke C, de Mendonca A, Vandenberghe R, Benussi L, Ghidoni R, Binetti G, Niessen WJ, Papma JM, Seelaar H, Jiskoot LC, de Jong FJ, Donker Kaat L, Del Campo M, Teunissen CE, Bron EE, Van den Berg E, Van Swieten JC.

Clinical value of cerebrospinal fluid neurofilament light chain in semantic dementia. Journal of Neurology,

Neurosurgery and Psychiatry 2019;90(9):997-1004. IF=8,327

D'Addario C, Bellia F, Benatti B, Grancini B, Vismara M, Pucci M, De Carlo V, Viganò C, Galimberti D, Fenoglio C, Scarpini E, Maccarrone M, Dell'Osso B. Exploring the role of BDNF DNA methylation and hydroxymethylation in patients with obsessive compulsive disorder.

Journal of Psychiatric Research 2019;114:17-23. IF=3,917

Massacesi L, Galliera E, Galimberti D, Fenoglio C, Arcaro M, Goi G, Barassi A, Corsi Romanelli MM.

Lag-time in Alzheimer's disease patients: a potential plasmatic oxidative stress marker associated with ApoE4 isoform.

Immunity and Ageing 2019;16:7.

IF=4,25

Costa AS, Guerini FR, Arosio B, Galimberti D, Zanzottera M, Bianchi A, Nemni R, Clerici M. *SNARE Complex Polymorphisms Associate with Alterations of Visual Selective Attention in Alzheimer's Disease.*

Journal Alzheimers Disease 2019;69(1):179-88.

IF=3,517

Galimberti D.

Genetic risk factors and role of immune dysfunction in FTLT.

Nature Reviews in Neurology 2019;15(5):250-1. IF=21,155

Dianzani C, Vecchio D, Clemente N, Chiocchetti A, Martinelli Boneschi F, Galimberti D, Dianzani U, Comi C, Mishto M, Liepe J.

Untangling Extracellular Proteasome-Osteopontin Circuit Dynamics in Multiple Sclerosis.

Cells 2019;8(3).

IF=4,829

Bonham LW, Steele NZR, Karch CM, Broce I, Geier EG, Wen NL, Momeni P, Hardy J, Miller ZA, Gorno-Tempini ML, Hess CP, Lewis P, Miller BL, Seeley WW, Manzoni C, Desikan RS, Baranzini SE, Ferrari R, Yokoyama JS; International FTD-Genomics Consortium (IFGC, including Galimberti D).

Genetic variation across RNA metabolism and cell death gene networks is implicated in the semantic variant of primary progressive aphasia.

Scientific Reports 2019;9(1):10854.

IF=4,011

Carandini T, Arighi A, Sacchi L, Fumagalli GG, Pietroboni AM, Ghezzi L, Colombi A, Scarioni M, Fenoglio C, De Riz MA, Marotta G, Scarpini E, Galimberti D.

Testing the 2018 NIA-AA research framework in a retrospective large cohort of patients with cognitive impairment: from biological biomarkers to clinical syndromes.

Alzheimers Research & Therapy 2019;11(1):84. IF=6,142

Tavares TP, Mitchell DGV, Coleman K, Shoesmith C, Bartha R, Cash DM, Moore KM, van Swieten J, Borroni B, Galimberti D, Tartaglia MC, Rowe J, Graff C, Tagliavini F, Frisoni G, Cappa S, Laforce R Jr, de Mendonça A, Sorbi S, Wallstrom G, Masellis M, Rohrer JD, Finger EC;

Genetic FTD Initiative, GENFI. Ventricular volume expansion in presymptomatic genetic frontotemporal dementia.

Neurology 2019;93(18):e1699-e1706.

IF=8,689

D'Anca M, Fenoglio C, Serpente M, Arosio B, Cesari M, Scarpini EA, Galimberti D.

Exosome Determinants of Physiological Aging and Age-Related Neurodegenerative Diseases.

Frontiers in Aging Neuroscience 2019;11:232.

IF=3,633

van der Ende EL, Meeter LH, Poos JM, Panman JL, Jiskoot LC, Doppler EGP, Papma JM, de Jong FJ, Verberk IMW, Teunissen C, Rizopoulos D, Heller C, Convery RS, Moore KM, Bocchetta M, Neason M, Cash DM, Borroni B, Galimberti D, Sanchez-Valle R, Laforce R Jr, Moreno F, Synofzik M, Graff C, Masellis M, Carmela Tartaglia M, Rowe JB, Vandenberghe R, Finger E, Tagliavini F, de Mendonça A, Santana I, Butler C, Ducharme S, Gerhard A, Danek A, Levin J, Otto M, Frisoni GB, Cappa S, Pijnenburg YAL, Rohrer JD, van Swieten JC;

Genetic Frontotemporal dementia Initiative (GENFI). Serum neurofilament light chain in genetic frontotemporal dementia: a longitudinal, multicentre cohort study.

Lancet Neurology 2019;18(12):1103-11.

IF=28,755

Sudre CH, Bocchetta M, Heller C, Convery R, Neason M, Moore KM, Cash DM, Thomas DL, Woollacott IOC, Foiani M, Heslegrave A, Shafei R, Greaves C, van Swieten J, Moreno F, Sanchez-Valle R, Borroni B, Laforce R Jr, Masellis M, Tartaglia MC, Graff C, Galimberti D, Rowe JB, Finger E, Synofzik M, Vandenberghe R, de Mendonça A, Tagliavini F, Santana I, Ducharme S, Butler C, Gerhard A, Levin J, Danek A, Frisoni GB, Sorbi S, Otto M, Zetterberg H, Ourselin S, Cardoso MJ, Rohrer JD; GENFI.

White matter hyperintensities in progranulin-associated frontotemporal dementia: A longitudinal GENFI study.

Neuroimage Clinical 2019;24:102077.

IF=3,943

Bianchetti A, Ferrara N, Padovani A, Scarpini E, Trabucchi M, Maggi S. Timely Detection of Mild Cognitive Impairment in Italy: An Expert Opinion. *Journal of Alzheimer's Disease* 2019;68(4):1401-14.
IF=3,517

Limongi F, Noale M, Bianchetti A, Ferrara N, Padovani A, Scarpini E, Trabucchi M, Maggi S; *MCI Working Group*. *The instruments used by the Italian centres for cognitive disorders and dementia to diagnose mild cognitive impairment (MCI)*. *Aging Clinical and Experimental Research* 2019;31(1):101-7.
IF=2,331

Pietroboni AM, Dell'Arti L, Caprioli M, Scarioni M, Carandini T, Arighi A, Ghezzi L, Fumagalli GG, De Riz MA, Basilico P, Colombi A, Benatti E, Triulzi F, Scarpini E, Viola F, Galimberti D.
The loss of macular ganglion cells begins from the early stages of disease and correlates with brain atrophy in multiple sclerosis patients. *Multiple Sclerosis* 2019;25(1):31-8.
IF=5,649

Scarpazza C, Signori A, Prosperini L, Sormani MP, Cosottini M, Capra R, Gerevini S; Italian PML Group (including Scarpini E, De Riz M).
Early diagnosis of progressive multifocal leucoencephalopathy: longitudinal lesion evolution. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry* 2019;90(3):261-7.
IF=8,327

Trojano M, Bergamaschi R, Amato MP, Comi G, Ghezzi A, Lepore V, Marrosu MG, Mosconi P, Patti F, Ponzio M, Zaratin P, Battaglia MA; Italian Multiple Sclerosis Register Centers Group (including Scarpini E).
The Italian multiple sclerosis register. *Neurological Sciences* 2019;40(1):155-65.
IF=2,484

International Multiple Sclerosis Genetics Consortium (Including Galimberti D).
Multiple sclerosis genomic map implicates peripheral immune cells and microglia in susceptibility. *Science* 2019;365(6460).IF=41,063

Delvecchio G, Mandolini GM, Arighi A, Prunas C, Mauri CM, Pietroboni AM, Marotta G, Cinnante CM, Triulzi FM, Galimberti D, Scarpini E, Altamura AC, Brambilla P.
Structural and metabolic cerebral alterations between elderly bipolar disorder and behavioural variant frontotemporal dementia: A combined MRI-PET study. *Aust N Z J Psychiatry* 2019;53(5):413-23. IF=5,084

IF totale: 300,99

5. PARTECIPAZIONE A EDITORIAL BOARD DI RIVISTE INTERNAZIONALI O NAZIONALI CON IF>0

- Dott. D. Galimberti - Senior Editor della rivista *Journal of Alzheimer's disease*
- Dott. D. Galimberti - Editor della sezione "Reviews" della rivista *Journal of Alzheimer's disease*
- Prof. E. Scarpini - Associate Editor della rivista *Journal of Alzheimer's disease*

6. MEMBERSHIP SOCIETÀ SCIENTIFICHE E ASSEGNAZIONE GRANTS

- Dott.ssa D. Galimberti – Secretary of the Dementia Panel della European Academy of Neurology (EAN)
- Prof. E. Scarpini – socio fondatore e membro del Consiglio Direttivo dell'Associazione per la ricerca sulle demenze della Società Italiana di Neurologia (SINDEM)
- Dott.ssa D. Galimberti – tesoriere della SINDEM
- Dott.ssa D. Galimberti – consigliere della Associazione Italiana Neuropatologia e Neurobiologia Clinica
- Prof. E. Scarpini – consigliere Associazione Italiana Ricerca Invecchiamento Cerebrale
- Dott. ssa D. Galimberti, membro della commissione “Reserche Translationnelle” - Agence Nationale de la Recherche - Francia
- Dott.ssa D. Galimberti, membro della commissione per l'assegnazione di grants della Fundação para a Ciência e a Tecnologia – Portogallo

7. FINANZIAMENTI

- Fondazione Gigi e Pupa Ferrari Onlus 15.000 nel 2019 - UniMi – E. Scarpini- finanziamento totale E 45.000 (2018-2020)
- Fondazione Monzino per progetto collaborativo con M. Negri sulla malattia di Alzheimer a Associazione Centro Dino Ferrari E 200.000
- Progetto JPND-ERANET "Synapse to nucleus communication in Alzheimer's disease (STAD)" - IRCCS Policlinico – E 70.000 (1-6-2016 a 31-5-2019) Atti 473/2016 All.8
- Progetto JPND-ERANET "Common pathways of protein misfolding in neurodegenerative diseases and molecular determinants of strain formation (Prefrontals) - IRCCS Policlinico – E 40.000 (1-3-2015 a 28-2-2019) Atti 473/2016 All.8
- Progetto Rete Neuroscienze - Genomica - IRCCS Policlinico 32.500 Atti 1133/2018 All.7 (NOTA: totale 65000 include anche progetto imaging prof. Triulzi)
- Ricerca Corrente IRCCS Policlinico E 173.037,75
- JPND “Diagnostic and Prognostic Precision medicine for bvFTD (DIPPA-FTD)” – E 147.087,50 Ente finanziatore MIUR– ente finanziato UniMI - D. Galimberti
- RF-2018-12365333 Healthy versus pathological aging: role of exosome-derived non coding RNAs and inflammatory transcripts in frailty and dementia – E 446.826,43 (unità partecipante: CNR)
- 3TR – Taxonomy, Treatments, Targets and Remission – “Identification of the molecular mechanisms of non-response to treatments, relapses and remission in autoimmune, inflammatory and allergic conditions E 815,450.00 (PI: Dr. Lorenzo Beretta) – Ente finanziatore: IMI, ente finanziato Fondazione IRCCS Policlinico

CENTRO PARKINSON ED ALTRI DISTURBI DEL MOVIMENTO

Responsabile:

Dr. Alessio Di Fonzo

Medici:

Dr.ssa Giulia Franco

Dr.ssa Ilaria Trezzi

Dott. Emanuele Frattini

Dott. Edoardo Monfrini

Dr.ssa Federica Arienti

Dr.ssa Giulia Lazzeri

Dr.ssa Maria Vizziello

Dr.ssa Arianna Manini

Dott. Giacomo Bitetto

Dott. Mattia Tosi

Dott. Marco Percetti

MD/PhD Student

Dr. Giacomo Monzio Compagnoni

Nel corso dell'anno 2019 le attività del gruppo di ricerca dedicato alla malattia di Parkinson ed altri disturbi del movimento si sono focalizzate sulle indagini molecolari e biochimiche e sullo sviluppo di modelli cellulari mirati ad approfondire l'eziopatogenesi della malattia di Parkinson e di altri disordini del movimento.

E' stata ulteriormente implementata l'attività clinico assistenziale e di ricerca con il sostegno della Fresco Institute Center of Excellence. Sono in corso studi osservazionali promossi dalla National Parkinson Foundation (Parkinsons' Outcome Project) con lo scopo di valutare aspetti clinico-assistenziali, la storia naturale della malattia di Parkinson e la qualità di vita dei pazienti. E' inoltre in corso uno studio osservazionale riguardante la differenza di genere nei pazienti affetti da Malattia di Parkinson in relazione all'introduzione in terapia di Levodopa.

Oltre all'attività inerente la ricerca clinica, nel 2019 è proseguita la sperimentazione terapeutica (studio di fase II) con un anticorpo monoclonale diretto contro la proteina alpha-sinucleina, il cui accumulo risulta nella neurodegenerazione alla base della patologia. E' inoltre iniziata una sperimentazione con un farmaco inibitore del reuptake della noradrenalina in pazienti affetti da ipotensione ortostatica neurogena (Malattia di Parkinson, Atrofia Multisistemica e Pure Autonomic Failure).

Inoltre, gli studi sugli aspetti genetici della malattia di Parkinson, condotti con la collaborazione d'istituti a carattere nazionale e internazionale, hanno permesso di individuare nuove mutazioni genetiche sia nelle forme giovanili sia in quelle adulte della malattia, e una migliore caratterizzazione dei fenotipi associate a determinati fattori di rischio genetico. Il lavoro condotto ha portato a numerose pubblicazioni scientifiche e presentazioni a congressi internazionali (Movement Disorder Meeting, International Congress on Parkinsonisms and Related Disorders, European Federation of Autonomic Societies).

Parallelamente sono stati portati avanti diversi progetti finalizzati all'identificazione di deficit enzimatici, in particolare dell'enzima lisosomiale Glucocerebrosidasi, sia nei linfociti che nei fibroblasti dei pazienti.

La ricerca del 2019 ha consentito di raggiungere importanti risultati nella comprensione dei meccanismi implicati anche in altri disturbi del movimento quali le atassie spino cerebellari, nelle quali è stato in particolare identificato un nuovo gene responsabile di una forma infantile. Si è venuta così a creare una fruttuosa collaborazione a livello internazionale nello studio dei neuroni di una forma di atassia spastica di recente identificazione.

Inoltre sono stati portati avanti gli ambiziosi progetti di studio della patogenesi della malattia di Parkinson e dell'Atrofia Multisistemica in modelli cellulari di neuroni, oligodendrociti e organoidi cerebrali generati a partire da cellule staminali pluripotenti indotte di pazienti affetti e controlli. Questi studi hanno permesso di dimostrare la presenza di alterazioni del sistema autofagico e della funzionalità mitocondriale.

Sono tuttora in corso due studi osservazionali multicentrici volti alla creazione di registri nazionali e internazionali. In particolare il primo studio è promosso dal Centro per le Malattie Neurodegenerative dell'A.O.U. Ruggi d'Aragona di Salerno e si propone di creare un registro nazionale sui disordini del movimento rari e tremori. Mentre il secondo a carattere internazionale, promosso dalla National Parkinson Foundation (USA) e dal titolo "Parkinson's Outcomes Project", ha come obiettivo primario quello di creare un registro internazionale di pazienti con malattia di Parkinson.

1) Screening genetici e analisi funzionale nella malattia di Parkinson

Le varianti eterozigoti del gene GBA rappresentano il fattore di rischio genetico più frequente della malattia di Parkinson. Abbiamo analizzato per mutazioni dell'intero gene circa duecento pazienti affetti da forme familiari e sporadiche della malattia identificando mutazioni in circa il 10%. E' stata studiata la prevalenza di disturbi motori e non motori di malattia di Parkinson in una coorte di pazienti con malattia di Gaucher. E' stato inoltre proseguito lo studio del contesto aploipico come modulatore dell'espressività e della penetranza delle mutazioni del gene GBA sia in pazienti con malattia di Parkinson che in pazienti con malattia di Gaucher. Partendo da linfociti dei pazienti affetti sono state eseguite analisi biochimiche volte a determinare sia l'attività enzimatica del gene che i livelli di proteina. Sono stati creati modelli cellulari per indagare l'effetto di farmaci sull'attività enzimatica in pazienti portatori di mutazioni nel gene GBA e nei controlli. I risultati sono stati oggetto di relazione a congressi internazionali e sono in fase di submission come lavoro scientifico in collaborazione con altri 5 centri Italiani che hanno eseguito l'analisi genetica e hanno inviato presso il nostro centro i linfociti per le analisi funzionali.

Vizziello M, Monfrini E, Trezzi I, Franco G, Cappellini MD, Cassinerio E, Tocco P, Carubbi F, Nascimbeni F, Valente EM, Petrucci S, Arienti F, Lazzeri G, Manini A, Bitetto G, Di Fonzo A.

Study of the haplotypic context as a modulator of the expressivity of GBA gene mutations in patients with Parkinson Disease and Gaucher Disease.

International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Nice. Sep 22 - 26, 2019

E. Monfrini, G. Franco, L. Straniero, A. Pilotto, A. Padovani, S. Duga, A. Di Fonzo.

L'identificazione di alleli ricombinanti di GBA incrementa la resa diagnostica nella malattia di Parkinson e nella demenza a corpi di Lewy

5° Congresso dell'Accademia LIMPE-DISMOV, Catania. May 22-24, 2019.

Riboldi GM, Di Fonzo AB.

GBA, Gaucher Disease, and Parkinson's Disease: From Genetic to Clinic to New Therapeutic Approaches.

Cells. 2019 Apr 19;8(4). pii: E364. doi: 10.3390/cells8040364. Review.

2) Screening genetici in pazienti con malattia di Parkinson e altri disordini del movimento

Studi di analisi di linkage e di analisi mutazionali di altri geni sono stati eseguiti e hanno portato a importanti risultati volti ad identificare nuovi geni coinvolti nella malattia di Parkinson. Uno studio di linkage di una famiglia italiana con malattia di Parkinson a trasmissione autosomica dominante ha portato all'identificazione di un nuovo gene, LRP10, identificato come gene causativo di forme ereditarie di alfa-sinucleinopatia (incluso la malattia di Parkinson e la demenza a corpi di Lewy).

Nell'ambito delle atassie spino cerebellari è stato identificato un nuovo gene (NFASC, Neurofascin) responsabile di una forma infantile ad ereditarietà autosomica recessiva.

Monfrini E, Straniero L, Bonato S, Monzio Compagnoni G, Bordoni A, Dilella R, Rinchetti P, Silipigni R, Ronchi D, Corti S, Comi GP, Bresolin N, Duga S, Di Fonzo A.

Neurofascin (NFASC) gene mutation causes autosomal recessive ataxia with demyelinating neuropathy.

Parkinsonism Relat Disord. 2019 Jun;63:66-72. doi: 10.1016/j.parkreldis.2019.02.045. Epub 2019 Mar 1.

Manini A, Monfrini E, Vizziello M, Arienti F, Lazzeri G, Franco G, Di Fonzo A.
The role of LRP10 mutations in Parkinson's Disease and Dementia with Lewy Bodies.
International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Nice. Sep 22 - 26, 2019

M Percetti, E Monfrini, A B. Di Fonzo.

Genetics of Parkinson's disease: insights from a Next-Generation Sequencing approach.

Parkinson Frontiers, Folgaria 10-12 Oct 2019

3) Generazione e caratterizzazione di neuroni dopaminergici e organoidi mesencefalici da cellule staminali pluripotenti indotte da pazienti affetti da Malattia di Parkinson con mutazione del gene *Park2* e *GBA*.

Per analizzare il processo patogenetico alla base della mutazione del gene *Park2*, causativa di una forma giovanile di Malattia di Parkinson, sono stati sviluppati modelli cellulari bi e tridimensionali partendo da fibroblasti e linfociti di pazienti affetti da tale patologia. I fibroblasti e i linfociti sono stati riprogrammati in cellule staminali utilizzando un vettore virale (Sendai virus). Le cellule staminali sono quindi state differenziate in neuroni dopaminergici e astrociti e sono state allestite delle co-culture crociate. Le analisi sono attualmente in corso e sono mirate soprattutto allo studio del canale del potassio KAR che nei pazienti con mutazione *Park2* sembra essere upregolato e causare una tossicità glutammatergica. Successivamente verrà testata in questi modelli una molecola con attività di inibizione del canale KAR per verificare se si verifica un rescue fenotipico. Abbiamo inoltre generato un modello innovativo, l'organoide con differenziamento mesencefalico, per meglio studiare la patogenesi della malattia in un tessuto simile a quello dei pazienti.

Frattoni E., Faustini G., Aureli M., Samarani M., Tosi M., Facchi D., Straniero L., Pittaro A., Salani S., Bresolin N., Silipigni R., Cribiù M., Duga S., Tritsch N., Bellucci A., Di Fonzo A.
Modeling GBA1 dysfunction in Parkinson's and Gaucher's Disease with iPSC-derived midbrain organoids.

European Organoids Symposium 2019, Milan, Italy, 2019 September 23rd – 24th

4) Registro nazionale italiano tremori e parkinsonismi atipici – Piattaforma NEURECA

Il nostro team ha intrapreso una collaborazione con altri centri italiani esperti in disordini del movimento allo scopo di raccogliere dati riguardanti pazienti affetti da tremore o parkinsonismi atipici e validare questionari inerenti l'impatto della malattia sulla qualità della vita dei pazienti e dei loro caregiver.

Picillo M, Cuoco S, Amboni M, Bonifacio FP, Bruschi F, Carotenuto I, De Micco R, De Rosa A, Del Prete E, Di Biasio F, Elifani F, Erro R, Fabbri M, Falla M, Franco G, Frosini D, Galantucci S, Lazzeri G, Magistrelli L, Malaguti MC, Milner AV, Minafra B, Olivola E, Pilotto A, Rascunà C, Rizzetti MC, Schirinzi T, Borroni B, Ceravolo R, Di Fonzo A, Marchese R, Mercuri NB, Modugno N, Nicoletti A, Padovani A, Santangelo G, Stefani A, Tessitore A, Volontè MA, Zangaglia R, Zappia M, Zibetti M, Barone P.

Validation of the Italian version of the PSP Quality of Life questionnaire.

Neurol Sci. 2019 Dec;40(12):2587-2594. doi: 10.1007/s10072-019-04010-2. Epub 2019 Jul 26.

Picillo M, Cuoco S, Amboni M, Bonifacio FP, Bruno A, Bruschi F, Cappiello A, De Micco R, De Rosa A, Di Biasio F, Elifani F, Erro R, Fabbri M, Falla M, Franco G, Frosini D, Galantucci S, Lazzeri G, Magistrelli L, Malaguti MC, Milner AV, Minafra B, Olivola E, Pilotto A, Rascunà C, Rizzetti MC, Schirinzi T, Borroni B, Ceravolo R, Di Fonzo A, Lopiano

L, Marchese R, Mercuri NB, Modugno N, Nicoletti A, Padovani A, Santangelo G, Stefani A, Tessitore A, Volontè MA, Zangaglia R, Zappia M, Barone P.

Validation of the Italian version of carers' quality-of-life questionnaire for parkinsonism (PQoL Carer) in progressive supranuclear palsy.

Neurol Sci. 2019 Oct;40(10):2163-2169. doi: 10.1007/s10072-019-03944-x. Epub 2019 Jun 12.

Lavori scientifici

Di Fonzo A, Franco G, Barone P, Erro R. Int

Parkinsonism in diseases predominantly presenting with dystonia.

Rev Neurobiol. 2019;149:307-326. doi: 10.1016/bs.irm.2019.10.007. Epub 2019 Nov 21.

Bitetto G, Ronchi D, Bonato S, Pittaro A, Compagnoni GM, Bordoni A, Salani S, Frattini E, Lopez G, Cribiù FM, Corti S, Comi GP, Bresolin N, Di Fonzo A.

Loss of the nucleoporin Aladin in central nervous system and fibroblasts of Allgrove Syndrome.

Hum Mol Genet. 2019 Dec 1;28(23):3921-3927. doi: 10.1093/hmg/ddz236.

Picillo M, Cuoco S, Amboni M, Bonifacio FP, Bruschi F, Carotenuto I, De Micco R, De Rosa A, Del Prete E, Di Biasio F, Elifani F, Erro R, Fabbri M, Falla M, Franco G, Frosini D, Galantucci S, Lazzeri G, Magistrelli L, Malaguti MC, Milner AV, Minafra B, Olivola E, Pilotto A, Rascunà C, Rizzetti MC, Schirinzi T, Borroni B, Ceravolo R, Di Fonzo A, Marchese R, Mercuri NB, Modugno N, Nicoletti A, Padovani A, Santangelo G, Stefani A, Tessitore A, Volontè MA, Zangaglia R, Zappia M, Zibetti M, Barone P.

Validation of the Italian version of the PSP Quality of Life questionnaire.

Neurol Sci. 2019 Dec;40(12):2587-2594. doi: 10.1007/s10072-019-04010-2. Epub 2019 Jul 26.

Monzio Compagnoni G, Di Fonzo

Understanding the pathogenesis of multiple system atrophy: state of the art and future perspectives.

A. Acta Neuropathol Commun. 2019 Jul 12;7(1):113. doi: 10.1186/s40478-019-0730-6. Review.

Picillo M, Cuoco S, Amboni M, Bonifacio FP, Bruno A, Bruschi F, Cappiello A, De Micco R, De Rosa A, Di Biasio F, Elifani F, Erro R, Fabbri M, Falla M, Franco G, Frosini D, Galantucci S, Lazzeri G, Magistrelli L, Malaguti MC, Milner AV, Minafra B, Olivola E, Pilotto A, Rascunà C, Rizzetti MC, Schirinzi T, Borroni B, Ceravolo R, Di Fonzo A, Lopiano L, Marchese R, Mercuri NB, Modugno N, Nicoletti A, Padovani A, Santangelo G, Stefani A, Tessitore A, Volontè MA, Zangaglia R, Zappia M, Barone P.

Validation of the Italian version of carers' quality-of-life questionnaire for parkinsonism (PQoL Carer) in progressive supranuclear palsy.

Neurol Sci. 2019 Oct;40(10):2163-2169. doi: 10.1007/s10072-019-03944-x. Epub 2019 Jun 12.

Riboldi GM, Di Fonzo AB.

GBA, Gaucher Disease, and Parkinson's Disease: From Genetic to Clinic to New Therapeutic Approaches.

Cells. 2019 Apr 19;8(4). pii: E364. doi: 10.3390/cells8040364. Review.

Monfrini E, Straniero L, Bonato S, Monzio Compagnoni G, Bordoni A, Dilella R, Rinchetti P, Silipigni R, Ronchi D, Corti S, Comi GP, Bresolin N, Duga S, Di Fonzo A.

Neurofascin (NFASC) gene mutation causes autosomal recessive ataxia with demyelinating neuropathy.

Parkinsonism Relat Disord. 2019 Jun;63:66-72. doi: 10.1016/j.parkreldis.2019.02.045. Epub 2019 Mar 1.

Bagnato F, Franco G, Li H, Kaden E, Ye F, Fan R, Chen A, Alexander DC, Smith SA, Dortch R, Xu J.

Probing axons using multi-compartmental diffusion in multiple sclerosis.

Ann Clin Transl Neurol. 2019 Sep;6(9):1595-1605. doi: 10.1002/acn3.50836. Epub 2019 Aug 13.

Bagnato F, Franco G, Ye F, Fan R, Commiskey P, Smith SA, Xu J, Dortch R.

Selective inversion recovery quantitative magnetization transfer imaging: Toward a 3 T clinical application in multiple sclerosis.

Mult Scler. 2019 Mar 25:1352458519833018. doi: 10.1177/1352458519833018. [Epub ahead of print]

Fanciulli A, Goebel G, Lazzeri G, Scherfler C, Gizewski ER, Granata R, Kiss G, Strano S, Colosimo C, Pontieri FE, Kaufmann H, Seppi K, Poewe W, Wenning GK.

*Early distinction of Parkinson-variant multiple system atrophy from Parkinson's disease.***Mov Disord.** 2019 Mar;34(3):440-441. doi: 10.1002/mds.27635. Epub 2019 Feb 20

Fanciulli A, Goebel G, Lazzeri G, Granata R, Kiss G, Strano S, Colosimo C, Pontieri FE, Kaufmann H, Seppi K, Poewe W, Wenning GK.

Urinary retention discriminates multiple system atrophy from Parkinson's disease.

Mov Disord. 2019 Dec;34(12):1926-1928. doi: 10.1002/mds.27917. Epub 2019 Nov 11. No abstract available.

Abstracts presentati a Congressi Nazionali ed Internazionali

E. Monfrini, G. Franco, L. Straniero, A. Pilotto, A. Padovani, S. Duga, A. Di Fonzo.

L'identificazione di alleli ricombinanti di GBA incrementa la resa diagnostica nella malattia di Parkinson e nella demenza a corpi di Lewy

5° Congresso dell'Accademia LIMPE-DISMOV, Catania. May 22-24, 2019.

E Monfrini, L Straniero, S Bonato, G Monzio Compagnoni, A Bordoni, R Dilella, P Rinchetti, R Silipigni, D Ronchi, S Corti, G P Comi, N Bresolin, S Duga, A Di Fonzo.

Neurofascin gene (NFASC) mutation causes autosomal recessive ataxia with demyelinating neuropathy

XXIV World Congress on Parkinson's Disease and Related Disorders, Montreal, Canada. June 16-19, 2019

Vizziello M, Monfrini E, Trezzi I, Franco G, Cappellini MD, Cassinerio E, Tocco P, Carubbi F, Nascimbeni F, Valente EM, Petrucci S, Arienti F, Lazzeri G, Manini A, Bitetto G, Di Fonzo A.

Study of the haplotypic context as a modulator of the expressivity of GBA gene mutations in patients with Parkinson Disease and Gaucher Disease.

International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Nice. Sep 22 - 26, 2019

Vizziello M, Dilella R, Giacobbe A, Monfrini E, Franco G, Di Fonzo A.

PRRT2 mutations are associated with a wide intrafamilial and interfamilial phenotypic variability.

International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Nice. Sep 22 - 26, 2019

Manini A, Monfrini E, Vizziello M, Arienti F, Lazzeri G, Franco G, Di Fonzo A.

The role of LRP10 mutations in Parkinson's Disease and Dementia with Lewy Bodies.

The Fresco International Workshop on Synaptic Plasticity and Advances in Parkinson's Disease. **International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Nice. Sep 22 - 26, 2019**

G. Lazzeri, E. Monfrini, I. Trezzi, M. Vizziello, M. Percetti, F. Arienti, G. Franco, L. Borellini, A. Arighi, A. Di Fonzo.

Are we underestimating the dysautonomic burden in GBA related α synucleinopathies?

International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Nice. Sep 22 - 26, 2019

F. Arienti, G. Franco, E. Monfrini, A. Seresini, A. Di Fonzo.

Clinical, genetic and radiological characterization of patients with movement disorders and basal ganglia calcification

International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Nice. Sep 22 - 26, 2019

A. Manini, T. Bocci, E. Monfrini, D. Ronchi, M. Vizziello, G. Franco, A. De Rosa, F. Sartucci, A. Di Fonzo.

A novel TGM6 heterozygous mutation in a patient with cerebellar ataxia

International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Nice. Sep 22 - 26, 2019

A. Manini, E. Monfrini, L. Straniero, M. Vizziello, G. Franco, S. Duga, A.

The role of LRP10 mutations in Parkinson's Disease and Dementia with Lewy Bodies

Di Fonzo. **International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Nice. Sep 22 - 26, 2019**

G. Bitetto, M.C. Malaguti, E. Monfrini, A. Di Fonzo.

Early onset parkinsonism and optic atrophy due to SLC25A46 mutations

International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Nice. Sep 22 - 26, 2019

L. Straniero, E. Monfrini, S. Bonato, G. Monzio Compagnoni, A. Bordoni, R. Dilella, R. Silipigni, D. Ronchi, S. Duga, A. Di Fonzo.

Neurofascin is a novel gene associated with autosomal recessive spastic and polyneuropathy

International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Nice. Sep 22 - 26, 2019

E Monfrini.

Neurofascin is a novel gene associated with hereditary ataxia and neuropathy

Oral presentation, Società Italiana di Neurologia, Bologna. 12-15 Oct 2019

M Percetti, E Monfrini, R Erro, A B Di Fonzo.

A de novo GNAL mutation presenting with childhood-onset cervical dystonia and cerebellar involvement: a case report.

Società Italiana di Neurologia, Bologna. 12-15 Oct 2019

M Percetti, E Monfrini, A B. Di Fonzo.

Genetics of Parkinson's disease: insights from a Next-Generation Sequencing approach.

LABORATORIO CELLULE STAMINALI

Responsabile:

Professor Yvan Torrente Neurologo Universitario in convenzione

Personale:

Marzia Belicchi	biologa con contratto a tempo indeterminato di tecnico di laboratorio laureato universitario
Mirella Meregalli	biologa con contratto a tempo indeterminato di tecnico di laboratorio laureato universitario
Andrea Farini	biologo, PostDoc con borsa annuale ospedaliera
Silvia Erratico	biotecnologa, contrattista annuale
Andrea Brambilla	biotecnologo con borsa annuale ospedaliera
Chiara Villa	bioingegnere, PostDoc con assegno universitario di tipo B annuale
Pamela Bella	biologa con borsa annuale ospedaliera
Mariella Legato,	biologa con borsa annuale ospedaliera
Federica Di Lorenzo	studente della facoltà di Biologia tirocinante per tesi magistrale dei 5 anni
Giulia Marchetti	studente della facoltà di Medicina e Chirurgia, tirocinante per tesi magistrale dei 5 anni
Stella Kaukab Osman	studentessa della facoltà Biological Sciences Master Degree Curriculum “Molecular Diagnostic“, tirocinante per tesi magistrale dei 5 anni
Monica Valitutti	studentessa della facoltà di Biologia applicata alla ricerca biomedica, tirocinante per tesi magistrale dei 5 anni
Sabrina Leotta	studentessa della facoltà di Biotecnologia del Farmaco, tirocinante per tesi magistrale dei 5 anni

Davide Molinaro	studente del V anno della facoltà di Medicina e Chirurgia (IMS), tirocinante programma Virgilio, I ciclo.
Ana Ciobanu	studente del IV anno della facoltà di Medicina e Chirurgia (IMS), tirocinante programma Virgilio, II ciclo.
Catherine Elizabeth Young	research fellow IRMI, tirocinante programma Virgilio,
Naima Guarrata	dottore in economia, project manager contrattist

Nel corso dell'anno 2019 il gruppo di lavoro diretto dal professor Torrente ha proseguito la propria ricerca nell'ambito delle patologie neuromuscolari ed in particolare della distrofia muscolare di Duchenne, patologia ancora oggi priva di cure risolutive.

I progetti di ricerca del Laboratorio del Prof. Torrente possono essere riassunti in tre filoni sperimentali che riguardano l'omeostasi muscolare, le cellule staminali ed il ruolo dell'immunità nelle malattie muscolari.

Omeostasi Muscolare

Numerose pubblicazioni scientifiche hanno evidenziato come una supplementazione dietologica corretta possa migliorare le prestazioni muscolari, migliorando anche lo stesso fenotipo distrofico. Ad esempio gli acidi grassi omega-3 sono considerati acidi grassi essenziali, indispensabili per uno stato ottimale della salute umana. Sono definiti essenziali perché non possono essere sintetizzati dall'organismo e, per questo motivo, si devono ottenere dagli alimenti.

Noti come acidi grassi poli-insaturi, gli omega-3 e gli omega-6 svolgono un ruolo cruciale per la funzionalità cerebrale così come per una crescita ed uno sviluppo corporeo normali, hanno potenti proprietà immunomodulatorie in grado di contrastare in maniera sensibile le infiammazioni e di curare e prevenire alcune malattie autoimmuni. Sulla base di queste evidenze il gruppo di ricerca diretto dal prof. Torrente quest'anno ha pubblicato un lavoro sulla rivista internazionale **“Frontiers in Neurology”** in cui viene descritto uno studio clinico (numero di registrazione del trial: NCT03317171) monocentrico, condotto in doppio cieco, randomizzato atto alla valutazione degli effetti a livello muscolare di una miscela di polifenoli e acidi grassi somministrata a pazienti affetti da distrofia muscolare e più precisamente da distrofia muscolare di Duchenne (DMD), distrofia facio-scapolo-omeroale (FSHD) e distrofia dei cingoli (LGMD). Lo scopo di questo studio è quello di verificare le potenzialità antiossidanti ed antiinfiammatorie del suddetto integratore nel contesto della distrofia muscolare: patologia muscolare caratterizzata da infiammazione e stress ossidativo. Questo trattamento potrebbe rappresentare una strategia terapeutica alternativa per i pazienti distrofici che non rispondono al trattamento con corticosteroidi, farmaci a cui sono correlati numerosi effetti collaterali. I risultati dello studio infatti dimostrano che, sebbene il ridotto numero di pazienti reclutati e l'ampia varietà del grado di gravità e di compromissione dei pazienti abbia inciso riducendo la significatività statistica, abbiamo ottenuto un profilo ottimale di sicurezza e tollerabilità per il composto, mostrando dati preziosi di efficacia.

E' noto che numerose modificazioni epigenetiche possono verificarsi in risposta a stimoli ambientali, tra cui uno dei più importanti è la dieta. Come risultato dei loro effetti a lungo termine, i cambiamenti epigenetici sono coinvolti nello sviluppo di molte malattie, compresi alcuni tumori e malattie neurologiche, quali le distrofie. Alla base, infatti, di queste malattie genetiche c'è una forte componente epigenetica. L'integrazione alimentare a base di una miscela di flavonoidi ed acidi grassi potrebbe favorire un miglioramento funzionale del muscolo distrofico attraverso la combinazione di meccanismi epigenetici compensatori. L'integrazione alimentare potrebbe essere utilizzata come terapia aggiuntiva e coadiuvante nel trattamento della distrofia muscolare al fine di migliorare la qualità della vita dei pazienti distrofici nel prolungare il tempo di cammino autonomo, ridurre l'affaticabilità, prolungare alcune autonomie come salire/scendere le scale o nell'utilizzo delle mani.

Interessante sottolineare il ruolo dei fattori di crescita insulino-simili (IGFs) tra i processi metabolici muscolari influenzati dalla dieta ricca di flavonoidi ed acidi grassi. Questi fattori di crescita IGFs svolgono un ruolo rilevante nello sviluppo e rigenerazione del tessuto

muscolare. Tra i fattori di crescita insulino-simili, l'IGF2 ha il ruolo di regolare la crescita cellulare, la sopravvivenza, la migrazione e il differenziamento. Il legame tra IGF2 ed il suo recettore (IGF2R) induce la degradazione lisosomiale di IGF2. Quindi, IGF2R serve ad eliminare IGF2 dalla circolazione o degradare l'eccesso di IGF2 in circolazione.

La regolazione intracellulare di Ca^{2+} risulta compromessa nelle fibre muscolari distrofiche, la rottura fisica della membrana potrebbe determinare l'ingresso incontrollato di ioni calcio nella fibra muscolare. L'aumento della concentrazione di calcio attiva una serie di enzimi ad azione degradativa sia sulle proteine, come le proteasi neutre tipo calpaina, sia sui fosfolipidi di membrana, come la fosfolipasi A2. Questi fenomeni sono autoinnescanti e porterebbero alla necrosi del segmento della fibra muscolare interessata.

I meccanismi che influenzano l'afflusso di Ca^{2+} nelle fibre muscolari distrofiche comprendono una lesione della membrana, un canale ionico attivato da stiramento meccanico della membrana, perdite nel rilascio dei canali Ca^{2+} . Il fatto che il recettore dell'IGF2 sia particolarmente presente nei muscoli dei pazienti affetti da DMD ci ha fatto ipotizzare che, probabilmente, è in atto una sorta di sequestro: l'eccessiva presenza di IGF2R, infatti, sottrae al muscolo l'IGF, indispensabile per la corretta omeostasi muscolare. Uno dei protagonisti della rigenerazione muscolare viene quindi meno, poiché sequestrato dal suo recettore che è troppo espresso. L'eccessiva espressione di IGF2R nei muscoli distrofici si associa ad una disfunzione di proteine coinvolte nel reuptake di Ca^{2+} nel reticolo sarcoplasmatico denominate SERCA. Queste evidenze sperimentali sono in parte l'oggetto di un lavoro pubblicato nel 2019 sulla prestigiosa rivista **“Embo Molecular Medicine”** dove è stato messo a punto un protocollo terapeutico che prevede l'inibizione dell'IGF2R al fine di riparare i muscoli distrofici danneggiati. Tale approccio sperimentale favorisce la rigenerazione muscolare dei tessuti muscolari distrofici con conseguente incremento della forza muscolare e di conseguenza la forza rappresentando un passo importante verso lo sviluppo di un nuovo approccio terapeutico nel trattamento della DMD.

Da molti anni il prof. Torrente collabora con numerosi colleghi impegnati in attività di ricerca di base e clinica all'interno dell'Università degli Studi di Milano e/o convenzionati con la Fondazione IRCCS Ca' Grande Ospedale Maggiore di Milano; in particolare, durante il 2019, la sinergia di diverse competenze cliniche, ha permesso la pubblicazione, sulla rivista scientifica **“European Journal of Case Reports in Internal Medicine”**, di uno studio clinico in cui viene descritto un raro caso di sepsi da streptococco di gruppo G (GGS) complicata da miopatia da tossina batterica. Lo studio clinico, realizzato in collaborazione con i colleghi medici della medicina interna e della medicina d'urgenza, espone il caso di un uomo di 65 anni, con una storia di infezione di una protesi della spalla, che presentava insufficienza multiorgano e probabile mialgia causato dalle tossine. Il paziente è stato trattato con successo con la rimozione di antibiotici e protesi. Questo caso suggerisce che l'infezione da GGS dovrebbe essere presa in considerazione in un paziente che presenta mialgia associata a sepsi.

Cellule Staminali

Nel 2006, Shinya Yamanaka ha fatto una sensazionale scoperta per riprogrammare cellule specializzate adulte in cellule staminali pluripotenti indotte, o cellule iPS. Queste cellule sono paragonabili alle cellule staminali embrionali, risolvendo il tema etico alla base dell'impiego di embrioni umani. L'utilizzo di iPS potrebbe non solo fornire un modo per ottenere una sorgente cellulare di muscolo ma anche essere il tramite per studi biomolecolari di risposta a nuovi farmaci. A tale fine, l'ottenimento di linee iPS da pazienti distrofici potrebbe rappresentare un vantaggio scientifico per la comunità dei ricercatori impegnati nella ricerca di una cura per le distrofie muscolari. Questo è l'oggetto di una pubblicazione scientifica pubblicata sulla rivista **“Stem Cell Research”** svolta in collaborazione con il gruppo di

ricerca del prof. Pompilio, vicedirettore scientifico del Centro Cardiologico Monzino, pioniere in Italia dell'impiego delle terapie biologiche avanzate in ambito cardiovascolare, e che da anni è impegnato nella ricerca nell'ambito delle malattie neuromuscolari e neurodegenerative. In questo lavoro viene descritta la creazione di linee di iPS a partire da fibroblasti di pazienti DMD portatori di delezione degli esoni da 51, 52, 53 allo scopo di utilizzarle per lo studio dei meccanismi della patologia e per selezionare nuovi composti con potenziali effetti terapeutici.

Ruolo dell'immunità nelle distrofie muscolari

Da alcuni anni il gruppo di ricerca diretto dal prof. Torrente ha approfondito lo studio dell'immunoproteosoma (iPS) derivante da una modificazione del proteosoma (PS) indotta dall'interferone (sostituzione di subunità catalitiche β 1, 2 e 5 con proteine a basso peso molecolare, LMP2 ed LMP5, e con un complesso endopeptidasi-simile, MECL1).

L'immunoproteosoma, rispetto al proteosoma, ha una capacità maggiore di generare peptidi con residui idrofobici o basici all'estremità C-terminale che sono favoriti nel legare con maggiore affinità le molecole MHC I. Il gruppo del Prof. Torrente ha recentemente descritto un'aumentata attività dell'immunoproteosoma nel muscolo distrofico. L'up-regolazione dell'immunoproteosoma è stata osservata anche nel cuore distrofico associata ad infiammazione, atrofia dei miociti e fibrosi cardiaca. Il trattamento con un inibitore dell'immunoproteosoma (ONX-0914) riduce l'infiammazione cardiaca attenuando il rilascio di citochine proinfiammatorie, diminuendo l'espressione del complesso di maggiore istocompatibilità di tipo I (MHC I) ed aumentando i linfociti T regolatori anti-infiammatori FoxP3+.

L'effetto del trattamento con ONX-0914 è stato testato in topi mdx giovani (6 settimane) e in topi mdx con cardiomiopatia dilatativa avanzata (9 mesi). È interessante notare che in entrambi i casi analizzati l'ONX-0914 potrebbe essere efficace: contrastare nei topi mdx giovani l'aumentare dei sintomi della cardiomiopatia, mentre nei topi mdx più vecchi alleviare gli esiti patologici.

Questi risultati sono l'oggetto di una pubblicazione uscita all'inizio dell'anno 2019 sulla rivista scientifica internazionale **"The Journal of American Pathology"**. Questo studio conferma che il trattamento con ONX-0914 riduce la formazione dell'infiltrato di cellule infiammatorie e della fibrosi nella cardiomiopatia dilatativa. I dati ottenuti sono stati validati ulteriormente da studi in vitro su cardiomiociti umani ottenuti dal differenziamento di cellule staminali pluripotenti indotte (iPSCs) di pazienti affetti da DMD ed è stato rilevato un coinvolgimento aberrante del pathway dell'immunoproteosoma in queste cellule distrofiche differenziate in cardiomiociti.

I dati così ottenuti andrebbero confermati in studi futuri di sperimentazione clinica per il trattamento della cardiomiopatia dilatativa che ad oggi rimane la complicanza più grave e che espone a rischio di vita i pazienti distrofici.

Durante il 2019 il professor Torrente ha continuato la sua attività di revisore di lavori scientifici per numerose prestigiose riviste internazionali e di progetti di ricerca ministeriali e internazionali; inoltre da alcuni anni fa parte dell'editorial board delle riviste scientifiche Scientific Reports e CellR4 che sono giornali multidisciplinari focalizzati in particolare sulla riprogrammazione, differenziamento e rigenerazione cellulare; continua il suo impegno quale Consigliere della Stem Cell Research Italy (SCR) e di UNISTEM e da quest'anno è anche Membro della Commissione Scientifica TACT (TREAT-NMD Advisory Committee for Therapeutics).

Infine nel 2019 il prof. Torrente, ha proseguito la sua attività didattica presso l'Università degli Studi di Milano quale docente del V anno di Medicina e della scuola di specializzazione in Neurologia e per la lezione "Cellule staminali e medicina rigenerativa" all'interno del Master di Farmacologia Oncologica del Prof Alberto Corsini del Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, docente per il seminario integrativo "Fisiologia e biochimica cellulare di cellule staminali per la terapia di malattie neuromuscolari" del Corso di Fisiologia (Docente Ref. Prof. Roberto Maggi) CdL Magistrale a ciclo unico in Farmacia – Facoltà di Scienze del Farmaco e docente per il VII° modulo del Corso di Master in Farmacia e Farmacologia Oncologica del Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, inoltre da quest'anno il prof Torrente è Membro del Collegio dei docenti del Corso di Dottorato di ricerca in Medicina Traslazionale – Università degli Studi di Milano.

PRODUTTIVITÀ SCIENTIFICA 2019

ELENCO PUBBLICAZIONI SU RIVISTE INTERNAZIONALI RECENSITE

Clementina Sitzia, Mirella Meregalli, Marzia Belicchi, Andrea Farini, Maddalena Arosio, Denise Bestetti, Chiara Villa, Luca Valenti, Paolo Brambilla and Yvan Torrente

Preliminary Evidences of Safety and Efficacy of Flavonoids- and Omega 3-Based Compound for Muscular Dystrophies Treatment: A Randomized Double-Blind Placebo Controlled Pilot Clinical Trial

Stem Cell Laboratory, Department of Pathophysiology and Transplantation, Università degli Studi di Milano, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Centro Dino Ferrari, Milan, Italy

Frontiers in Neurology, July 2019 | Volume 10 | Article 755

I.F.: 2.635

Pamela Bella, Andrea Farini, Stefania Banfi, Daniele Parolini, Noemi Tonna, Mirella Meregalli, Marzia Belicchi, Silvia Erratico, Pasqualina D'Ursi, Fabio Bianco, Mariella Legato, Chiara Ruocco, Clementina Sitzia, Simone Sangiorgi, Chiara Villa, Giuseppe D'Antona, Luciano Milanesi, Enzo Nisoli, PierLuigi Mauri & Yvan Torrente.

Blockade of IGF2R improves muscle regeneration and ameliorates Duchenne muscular dystrophy

Stem Cell Laboratory, Department of Pathophysiology and Transplantation, Università degli Studi di Milano, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Centro Dino Ferrari, Milan, Italy

EMBO Molecular Medicine 12: e11019 | 2020.

I.F.: 10.624

Andrea Farini, Aoife Gowran, Pamela Bella, Clementina Sitzia, Alessandro Scopece, Elisa Castiglioni, Davide Rovina, Patrizia Nigro, Chiara Villa, Francesco Fortunato, Giacomo Pietro Comi, Giuseppina Milano, Giulio Pompilio, and Yvan Torrente

Fibrosis Rescue Improves Cardiac Function in Dystrophin-Deficient Mice and Duchenne Patient Specific Cardiomyocytes by Immunoproteasome Modulation

Stem Cell Laboratory, Department of Pathophysiology and Transplantation, Università degli Studi di Milano, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Centro Dino Ferrari, Milan, Italy

The American Journal of Pathology

I.F.: 3.762

Rovina Davide, Castiglioni Elisa, Farini Andrea, Belichi Marzia, Gervasini Cristina, Paganini Stefania, Di Segni Marina, Santoro Rosaria, Torrente Yvan, Pompilio Giulio, Gowran Aoife
Establishment of a Duchenne muscular dystrophy patient-derived induced pluripotent stem cell line carrying a deletion of exons 51–53 of the dystrophin gene (CCMi003-A)

Stem Cell Laboratory, Department of Pathophysiology and Transplantation, Università degli Studi di Milano, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Centro Dino Ferrari, Milan, Italy

Stem Cell Research **40** (2019) 101544

I.F.: 3.929

Valeria Di Stefano, Margherita Migone De Amicis, Cecilia Bonino, Natalia Scaramellini, Yvan Torrente, Stefania Piconi, Francesca Minonzio

Myalgia, Obtundity and Fever in a Patient with a Prosthesis

Stem Cell Laboratory, Department of Pathophysiology and Transplantation, Università degli Studi di Milano, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Centro Dino Ferrari, Milan, Italy

European Journal of Case Reports in Internal Medicine 2019 10.12890/2019_001021

I.F.: 3.2

ELENCO CONGRESSI 2019

1. Comunicazione scientifica su riviste non censite (Oral presentation, Invited speaker) Ruolo delle iPS nella medicina personalizzata. Y. Torrente. ITALIAN INFRASTRUCTURE FOR REGENERATIVE MEDICINE - Evento Conclusivo Sala "Aula Magna" Regione Emilia Romagna. Bologna, 30 Settembre 2019
2. Comunicazione scientifica su riviste non censite (Oral presentation, Invited speaker) Nuove prospettive terapeutiche nelle Distrofie Muscolari. Y. Torrente. 17th Mediterranean Neuroscience Congress – 22nd Etnean Epilepsy Workshop. Catania, May 27-28, 2019
3. Repurposing of metformin identified as a potential therapy in models of BAG3 myofibrillar myopathy. A. Ruparelia, E. McKaige, C. Williams, K. Schulze, M. Fuchs, V. Oorschot, E. Lacene, M. Meregalli, E. Baxter, Y. Torrente, G. Ramm, T. Stojkovic, J. Lavoie, R. Bryson-Richardson. 6th International congress of Myology. Bordeaux, FR. March 25-28 2019.
4. Comunicazione scientifica su riviste non censite (Poster presentation) Rest is required for the regenerative response of skeletal muscle. M. Meregalli, M. Legato, M. Belicchi, A. Umbach, S. Erratico, P. Ciscato, M. Moggio, G.R. Merlo, Y. Torrente. 6th International congress of Myology. Bordeaux, FR. March 25-28 2019.
5. Comunicazione scientifica su riviste non censite (Poster presentation) Autologous intramuscular transplantation of engineered satellite cells induces exosome-mediated systemic expression of Fukutin-Related Protein and rescues disease phenotype in a murine model of Limb-Girdle Muscular Dystrophy Type 2I. C. Villa, A. Brambilla, M. Meregalli, M. Belicchi, P. Bella, M. Raimondi, Y. Torrente. 6th International congress of Myology. Bordeaux, FR. March 25-28 2019.
6. Comunicazione scientifica su riviste non censite (Poster presentation) Combined effects of nutrients and gut microbiota in the immunomodulation of DMD. A. Farini, P. Bella, F. di Lorenzo, G. Baselli, Y. Torrente. 6th International congress of Myology. Bordeaux, FR. March 25-28 2019.

7. Comunicazione scientifica su riviste non censite (Poster presentation)
Fibrosis rescue improves cardiac function in dystrophin-deficient mice and Duchenne patient-specific cardiomyocytes by immunoproteasome modulation. *P. Bella, A. Farini, A. Gowran, C. Villa, C. Sitzia, A. Scopece, G. Pompilio, G.P. Comi, F. Fortunato, Y. Torrente*. 6th International congress of Myology. Bordeaux, FR. March 2019
8. Comunicazione scientifica su riviste non censite (Poster presentation)
Myoexosomes cargo triggers muscle regeneration and provides molecular cues for next-generation therapy in muscular dystrophy. *A. Brambilla, C. Villa, M. Meregalli, G. Marchetti, Y. Torrente*. 6th International congress of Myology. Bordeaux, FR. March 25-28 2019.
9. Comunicazione scientifica su riviste non censite (Poster presentation)
Treatment with ROS detoxifying metal nanoclusters alleviates the progressive functional decline in a mouse model of Friedreich's Ataxia. *C. Villa, A. Umbach, A. Monguzzi, G. Merlo, Y. Torrente*. 6th International congress of Myology. Bordeaux, FR. March 25-28 2019.
10. Comunicazione scientifica su riviste non censite (Poster presentation)
Impact of Muscular Dystrophy on the Regenerative Properties of Interstitial Muscle Cells. *M. Belicchi, M. Meregalli, S. Erratico, A. Cattaneo, C. Villa, A. Farini, L. Porretti, Y. Torrente*. 6th International congress of Myology. Bordeaux, FR. March 25-28 2019.

ELENCO DEI PROGETTI DI RICERCA FINANZIATI ED ANCORA IN CORSO

Titolo progetto: "Progetto Emanuela: terapie immunomodulanti nelle patologie proliferative dei tumori solidi"

Ente finanziatore: Donazione Liberale

Ruolo nel Progetto: PI

Finanziamento: 50.000 euro

Titolo progetto: "Una rete per terapie geniche e cellulari per malattie devastanti" (acronimo: PLAGENCELL) – Bando per il finanziamento di Progetti di Rete II Edizione –

Ente finanziatore: Fondazione Regionale per la Ricerca Biomedica, Regione Lombardia

Ruolo nel Progetto: Co-PI

Finanziamento totale : 3.000.000,00 euro

Titolo progetto: "Creazione di un'infrastruttura multiregionale (Italian Regenerative Medicine infrastructure IRMI) per lo sviluppo delle terapie avanzate finalizzate alla rigenerazione di organi e tessuti"

Ente finanziatore: Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca (MIUR)

Ruolo nel Progetto: Co-PI

Finanziamento: 207.845 euro

Titolo progetto: "Gene therapy for alpha-dystroglycan muscular dystrophy (MDC1C). Trattamento delle distrofie congenite da difetto di glicosilazione dell'alfa-distroglicano mediante l'uso autologo di piastrine"

Ente finanziatore: Fondazione Opsi Onlus

Ruolo nel Progetto: PI

Finanziamento: 68.200 euro

Titolo progetto: “Validazione del sistema di editing genetico in modelli cellulari di atassia di Friedreich” (CURATASSIA prosiegua)

Enti finanziatori: Associazione “Ogni Giorno” - per Emma ONLUS, Associazione “Per il sorriso di Ilaria di Montebruno” ONLUS

Ruolo nel Progetto: PI

Finanziamento: 74.000 euro

Titolo progetto : “Combinazione del sistema di editing genetico con proteine e nanoparticelle per la cura dell’atassia di Friedreich (CURATASSIA)”

Enti finanziatori: Associazione “Ogni Giorno” - per Emma ONLUS, Associazione “Per il sorriso di Ilaria di Montebruno” ONLUS

Ruolo nel Progetto: PI

Finanziamento: 100.000 euro

Titolo progetto : “Multimodal nanotracking for exosome-based therapy in DMD” (Rif. RF-2016-02362263)

Ente finanziatore: Ministero della Salute (Ricerca Finalizzata 2016, Linea di ricerca: “Theory-enhancing”)

Ruolo nel Progetto: PI

Finanziamento: 245.000 euro

ELENCO COLLABORAZIONI INTERNAZIONALI E NAZIONALI DEL LABORATORIO CELLULE STAMINALI

Prof. Yvan Torrente

- **Luis Garcia**, UPMC Um76, Inserm U974, CNRS UMR7215, Institut de Myologie, Paris, France
- **Camillo Ricordi**, Director of the Diabetes Research Institute (DRI) and the Cell Transplant Center, University of Miami (UM), Miami, Florida
- **Giulio Cossu**, Institute of Inflammation and repair, University of Manchester, Manchester, UK
- **Fulvio Mavilio**, Scientific Director of Genethon, Evry, France
- **Pura Muñoz Cánoves**, ICREA Research Professor and Cell Biology Professor at the Department of Experimental and Life Sciences, Pompeu Fabra University, Barcelona, Spain
- **Jacques Tremblay**, Centre de recherche, Centre hospitalier de l’Université de Montréal, (CRCHUM), Montréal, Québec, Canada
- **Joao da Silva Bizarro**, AADM/UNAERP Ribeirao Preto, Sao Paulo, Brazil
- **Humberto Cerrel Bazo**, direttore Dipartimento Medicina riabilitativa AUSL Piacenza
- **Adolfo Lopez de Munain Arregui**, Grupo Neurogenética, Hospital Donostia-Unidad Experimental San Sebastian, Espana
- **Kay Davies**, Department of Physiology, Anatomy and Genetics, University of Oxford, Oxford, UK
- **Maurilio Sampaolesi**, Stem Cell Research Institute, University Hospital Gasthuisberg, Leuven, Belgium, Human Anatomy Section, University of Pavia, Pavia, Italy, Interuniversity Institute of Myology (IIM), Italy

- **Gillian Butler-Brown and Vincent Mouly**, Institut de Myologie, Institut national de la sante' et de la recherche me' dicale, and L'Universite' Pierre et Marie Curie Paris, Paris, France
- **Giuseppe Perale**, I.B.I. S/A, Svizzera, Dipartimento di Chimica, Materiali e Ingegneria Chimica "Giulio Natta" Sezione Chimica Fisica Applicata, Politecnico di Milano, Milano
- **Roberto Maggi**, Professore universitario di seconda fascia Fisiologia, Facoltà di Farmacia, Università degli Studi di Milano
- **Mario Pellegrino**, Prof. Associato presso il Dipartimento di Ricerca Traslazionale e delle Nuove Tecnologie in Medicina e Chirurgia, Università di Pisa
- **Daniele Cusi**, Professore di Nefrologia, Università degli Studi di Milano
- **Cristina Barlassina**, Dipartimento di Medicina, Chirurgia e Odontoiatria, Università degli Studi di Milano
- **Anna Spada**, U.O. di Endocrinologia e Diabetologia, Dipartimento di Scienze Mediche, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico
- **Irene Cettin**, Direttore UO Complessa di Ostetricia e Ginecologia, Direttore Centro di Ricerche Fetali Giorgio Pardi, Università degli Studi di Milano - Polo Universitario Ospedale L.Sacco di Milano
- **Paola Rossi**, Professore universitario per il settore scientifico disciplinare BIOO9 (Fisiologia Generale) presso il Dipartimento di Scienze Fisiologiche e Farmacologiche cellulari e molecolari- Sezione di Fisiologia dell'Università di Pavia.
- **Angelo Poletti**, Biologia Applicata, Università degli Studi di Milano, Facoltà di Farmacia, Università degli Studi di Milano
- **Silvio Bicciato**, bioinformatics unit, Faculty of Biosciences and Biotechnologies, University of Modena and Reggio Emilia
- **Enrico Tagliafico**, clinical Biochemistry, University of Modena and Reggio Emilia
- **Sergio Abrignani**, direttore del National Institute of Molecular Genetics (INGM), Milan, Italy
- **Silvano Bosari**, direttore UOC Anatomia Patologica, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico di Milano, Dipartimento di Fisiopatologia Medico-Chirurgica e dei Trapianti, Università degli Studi di Milano
- **Carlo Agostoni**, Direttore della Clinica Pediatrica II dell'Università degli Studi, IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico di Milano
- **Lorenza Lazzari e Rosaria Giordano**, Cell Factory Center for Transfusion Medicine, Cell Therapy and Criobiology, Department of Regenerative Medicine, Fondazione IRCCS Cà Granda Ospedale Maggiore Policlinico di Milano
- **Agostino Cortelezzi**, direttore UOC Ematologia I e Centro Trapianti Midollo, Fondazione IRCCS Cà Granda Ospedale Maggiore Policlinico
- **Giuseppe D'Antona**, Department of Molecular Medicine, University of Pavia, Pavia, Italy LUSAMMR, Laboratory for Motor Activities in Rare Diseases, Sport Medicine, Centre Voghera, Voghera, Italy
- **Enzo Nisoli**, Center for Study and Research on Obesity, Department of Medical Biotechnology and Translational Medicine, University of Milan, Milan, Italy;
- **Dario Parazzoli**, Imaging Facility IFOM Foundation – The FIRC Institute of Molecular Oncology Foundation, Milan, Italy
- **Stefano Campaner**, Center for Genomic Science of IIT@SEMM; Istituto Italiano di Tecnologia (IIT); Milan, Italy

- **Francesco Nicassio**, Department of Experimental Oncology, European Institute of Oncology, IFOM-IEO Campus
- **Luciano Conti**, Laboratory of Stem Cell Biology, CiBio, Università di Trento
- **Alessandro Quattrone**, Director of CiBio, University of Trento
- **Elena Cattaneo**, Department of Biosciences and Centre for Stem cell Research, Università degli Studi di Milano
- **Giovanna Cantarella**, Dirigente Medico Otorinolaringoiatra e Foniatra, Padiglione Monteggia, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico di Milano
- **Mauro Pluderi e Nadia Grimoldi**, UO Neurochirurgia, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico di Milano
- **Paolo Vezzoni**, Dirigente di Ricerca e Responsabile dell'Unità Operativa di Supporto (UOS) dell'Istituto di Ricerca Genetica e Biomedica (IRGB) del CNR.
- **Marina Bouchè**, Unit of Histology, and IIM, Sapienza University, DAHFMO, Rome, Italy
- **Davide Gabellini**, Dulbecco Telethon Institute and Division of Regenerative Medicine, San Raffaele Scientific Institute, Milan
- **Franco Rustichelli**, Dipartimento di Scienze Cliniche e Odontostomatologiche, Sezione di Biochimica, Biologia e Fisica, Università Politecnica delle Marche, Ancona, Italy
- **Silvia Della Bella**, Lab of Clinical and Experimental Immunology, Humanitas Clinical and Research Center, Rozzano (MI), Italy, Department of Medical Biotechnologies and Translational Medicine, University of Milan, Milan, Italy
- **Aldo Pagano**, Department of Experimental Medicine, University of Genoa, Genoa, Italy, IRCCS Azienda Ospedaliera Universitaria San Martino-IST, Genoa, Italy
- **Francesco Meinardi**, Professore di Fisica della Materia, l'Università di Milano Bicocca
- **Jose F Rodriguez-Matas**, Associate professor, LabS (www.labsmech.polimi.it) Chemistry, Materials and Chemical Engineering Department "Giulio Natta" Politecnico di Milano, Italy
- **Giorgio Roberto Merlo**, Dipartimento di Biotecnologie Molecolari e Scienze per la salute-Università di Torino
- **Giorgio Pajardi**, Dipartimento di Scienze Cliniche e di Comunità, Università degli Studi di Milano, Direttore U.O.C. di Chirurgia e Riabilitazione della Mano Ospedale S. Giuseppe Milano, Gruppo MultiMedica IRCCS
- **Dr Yuri D'Alessandra** – Unità di Immunologia e genomica funzionale, Centro Cardiologico Monzino IRCCS, Milan, Italy
- **Prof. Stefano Biressi** – Centro di Biologia Integrata – CIBIO, Università degli Studi di Trento
- **Prof. Lorenzo Bello** - Neurochirurgia Oncologica, Humanitas, Milano
- **Prof. Alberto Priori** - U.O.C. Neurologia, Ospedale San Paolo, Milano
- **Prof. Pietro Mauri** – Istituto di Tecnologie Biomediche, Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR-ITB), Milano
- **Prof.ssa M.G. Bruzzone** – UOC Neuroradiologia, Istituto Neurologico Besta, Milan, Italy
- **Prof. Simone Guglielmetti** - Dipartimento di Scienze per gli Alimenti, la Nutrizione e l'Ambiente, Università degli Studi di Milano, Milano

- **Prof. Umberto Galderisi** – Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università degli Studi della Campania "Luigi Vanvitelli"
- **D.ssa Barbara Cassani** – Istituto di Genetica e Biomedicina (IRGB), National Research Council (CNR) Milano
- **Prof. Sabrina Sacconi** – Nice University Hospital, Nice, France

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO

U.O. NEUROLOGIA – STROKE UNIT LABORATORIO DI NEUROSCIENZE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO IRCCS ISTITUTO AUXOLOGICO ITALIANO

Responsabile

Prof. Dott. Vincenzo Silani

U.O. Neurologia-Stroke Unit:

Dott.ssa Laura Adobbati

Dirigente I° Livello – Stroke Unit
IRCCS Istituto Auxologico Italiano

Dott. Luca Maderna

Dirigente I° Livello - Neurofisiologia
IRCCS Istituto Auxologico Italiano

Dott. Stefano Messina

Dirigente I° Livello - Neurologia
IRCCS Istituto Auxologico Italiano

Dott. Andrea Ciammola

Dirigente I° Livello - Neurologia
IRCCS Istituto Auxologico Italiano

Dott. Barbara Corrà

Dirigente I° Livello – Stroke Unit
IRCCS Istituto Auxologico Italiano

Prof. Nicola Ticozzi

Professore Associato Neurologia
Università degli Studi di Milano
IRCCS Istituto Auxologico Italiano

Dott.ssa Claudia Morelli

Dirigente I° Livello – Neurologia
IRCCS Istituto Auxologico Italiano

Dott. Luca Campana

Neurologo, Contrattista in Convenzione

Dott. Riccardo Doronzo

IRCCS Istituto Auxologico Italiano
Neurologo, Consulente in Convenzione
IRCCS Istituto Auxologico Italiano

Dott.ssa Carolina Lombardi

Dirigente I° Livello - Centro Sonno
IRCCS Istituto Auxologico Italiano

Dott.ssa Paola Mattaliano

Dirigente I° Livello - Centro Sonno
IRCCS Istituto Auxologico Italiano

Dott. Alberto Doretti

Neurologo, Consulente in Convenzione
IRCCS Istituto Auxologico Italiano

Dott. Federico Verde

Neurologo, Consulente in Convenzione
IRCCS Istituto Auxologico Italiano

Dott. Ignacio Juan Keller Sarmiento

Specializzando in Neurologia
Università degli Studi di Milano
IRCCS Istituto Auxologico Italiano

Dott.ssa Eleonora Colombo	Specializzanda in Neurologia Università degli Studi di Milano IRCCS Istituto Auxologico Italiano
Dott. Jacopo Pasquini	Specializzando in Neurologia Università degli Studi di Milano IRCCS Istituto Auxologico Italiano
Dott. Alessio Maranzano	Specializzando in Neurologia Università degli Studi di Milano IRCCS Istituto Auxologico Italiano
Dott. Narghes Calcagno	Specializzanda in Neurologia Università degli Studi di Milano IRCCS Istituto Auxologico Italiano
Dott.ssa Francesca Trogu	Specializzanda in Neurologia Università degli Studi di Milano IRCCS Istituto Auxologico Italiano
Dott. Gianluca Demirtzidis	Tecnico di Neurofisiologia Coordinatore Trial Clinici IRCCS Istituto Auxologico Italiano
Dott.ssa Barbara Poletti	Dirigente I° Livello - Psicologia IRCCS Istituto Auxologico Italiano
Dott.ssa Annalisa Lafronza	Psicologa, Contrattista a Progetto IRCCS Istituto Auxologico Italiano
Dott. Laura Carelli	Psicologa, Contrattista a Progetto IRCCS Istituto Auxologico Italiano
Dott.ssa Federica Solca Tipo A	Psicologa, Assegnista di ricerca Post doc - Università degli Studi di Milano IRCCS Istituto Auxologico Italiano
Dott.ssa Alessandra Gnesa	Psicologa, Contrattista a Progetto IRCCS Istituto Auxologico Italiano
Dott.ssa Sofia Tagini	Psicologa, Contrattista a Progetto IRCCS Istituto Auxologico Italiano
Dott.ssa Elisa Urso	Psicologa, consulente in Convenzione IRCCS Istituto Auxologico Italiano
Dott.ssa Roberta Fratoni	Psicologa, Consulente in Convenzione IRCCS Istituto Auxologico Italiano
Dott.ssa Marta Costantini	Psicologa, Consulente in Convenzione IRCCS Istituto Auxologico Italiano
Dott.ssa Silvia Torre	Psicologa, Contrattista a Progetto IRCCS Istituto Auxologico Italiano

Dott. Paolo Banfi	Pneumologo, Consulente in Convenzione IRCCS Istituto Auxologico Italiano
Barbara Riccardi	Tecnico neurofisiologa IRCCS Istituto Auxologico Italiano
Francesca Gregorini	Tecnico neurofisiologa IRCCS Istituto Auxologico Italiano
Patrizia Nelli	Segreteria Scientifica U.O. Neurologia IRCCS Istituto Auxologico Italiano

Laboratorio Sperimentale di Ricerche di Neuroscienze

Dott.ssa Antonia Ratti	Professore Associato Genetica Università degli Studi di Milano IRCCS Istituto Auxologico Italiano
Dott.ssa Patrizia Bossolasco	Biologa, Contrattista a Progetto IRCCS Istituto Auxologico Italiano
Dott.ssa Claudia Colombrita	Biologa, Contrattista a Progetto IRCCS Istituto Auxologico Italiano
Dott.ssa Cinzia Tiloca	Biotechnologa, Contrattista a Progetto IRCCS Istituto Auxologico Italiano
Dott.ssa Valentina Gumina	Biologa, Contrattista a Progetto IRCCS Istituto Auxologico Italiano
Dott.ssa Annamaria Maraschi	Biologa, Contrattista a Progetto IRCCS Istituto Auxologico Italiano
Dott.ssa Silvia Peverelli	Biologa, Contrattista a Progetto IRCCS Istituto Auxologico Italiano
Dott.ssa Donatella Bardelli	Biologa, Assegno di ricerca, Università degli Studi di Milano IRCCS Istituto Auxologico Italiano
Dott.ssa Serena Santangelo	Biotechnologa, Dottoranda in Medicina Sperimentale - Università degli Studi di Milano
Dott.ssa Clara Volpe	Medico, Dottoranda in Medicina Molecolare e Traslazionale, Università degli Studi di Milano IRCCS Istituto Auxologico Italiano

Rapporti di collaborazione:

Nazionali:

Prof. Nereo Bresolin, Prof. Giacomo Comi Prof. Stefania Corti, Prof. Elio Scarpini, Dott.Maurizio Moggio, Dott.ssa Daniela Galimberti Dott. Roberto Del Bo	Centro “Dino Ferrari”
Dott.ssa Cinzia Gellera, Dott. Franco Taroni, Prof. Giuseppe Lauria, Dott.ssa Giacomina Rossi, Dott. Fabrizio Tagliavini	IRCCS Istituto C. Besta, Milano
Dott.ssa Lorenza Lazzari	IRCCS Ospedale Maggiore Policlinico
Dott. Fabio Blandini,	IRCCS Istituto Mondino, Pavia Dr. Cristina Cereda
Dott. Christian Lunetta, Dott.ssa Valeria Prof. Luca Persani	Centro Clinico Nemo Sansone Dipartimento di Endocrinologia
	IRCCS Istituto Auxologico Italiano
Prof.ssa Palma Finelli, Dott.ssa Daniela Giardino	Laboratorio di Citogenetica IRCCS Istituto Auxologico Italiano
Dott. Luigi Sironi, Dott. A.E. Rigamonti	Dipartimento di Farmacologia
	Università di Milano - CEND
IRCCS Ospedale Maggiore Policlinico	Prof. Fabio Triulzi Dott. Alessandro Sillani Dott.ssa Clara Sina
Prof. Massimo Filippi	Neuroimaging Research Unit and
Dott. ssa Federica Agosta Prof. Giancarlo Comi	Department of Neurology, Institute of Experimental Neurology,
Prof. Andrea Falini	Division of Neuroscience and
	Department of Neuroradiology, Vita-Salute University and San Raffaele Scientific Institute, Milan
Dott. Emanuele Buratti, Dott. Francisco Baralle	Laboratory of Molecular Pathology
Dott. Marco Baralle Engineering	International Centre for Genetic and Biotechnology (ICGEB), Trieste
Prof. Angelo Poletti, Dott.ssa Valeria Crippa	Dipartimento di Scienze Farmacologiche

	e Biomolecolari, CEND, Università degli Studi di Milano
Dott. Francesco Bifari	Dipartimento di Biotecnologie Mediche e Medicina Traslazionale, Università degli Studi di Milano
Dott. Marco Feligioni	Centro EBRI, Roma
Prof. Emanuele Borgonovo Dott. ssa Raffaella Piccarreta <u>Internazionali:</u>	Dipartimento di Scienze Decisionali Università Commerciale “L. Bocconi”
Prof. Robert H. Brown, Prof. John Landers Dott.ssa Claudia Fallini	University of Massachussetts Medical School, Department of Neurology Worcester, MA, USA
Prof. Albert Ludolph, Prof. Markus Otto	Università di Ulm, Germania Dipartimento di Neurologia
Prof. Ammar Al-Chalabi Prof. Christopher Shaw Prof. John Powell	King’s College, London Dipartimento di Neurologia
Prof. Leonard Petrucelli	Mayo Clinic, Florida, USA Department of Neurology
Prof. Markus Weber	Dipartimento di Neurologia Università di St. Gallen, Svizzera
Dott. Damian Wollny	Max Planck Institute, Leipzig, Germania
Prof. Dale J. Lange	Department of Neurology New York – USA
Prof. Hiroshi Mitsumoto	Department of Neurology Eleanor and Lou Gehrig MDA/ALS Research Center Columbia University Medical Center New York - USA
Prof. Merit E. Cudkowicz	Neuromuscular Division Neurology Massachusetts General Hospital Boston - USA
Prof. Stanley H.	Appel Department of Neurology Methodist Neurological Institute Chair Houston -USA
Prof. Sharon Abrahams	Euan Mac Donald Centre for Motor Neurone Disease Research University of Edinburgh - UK

ATTIVITÀ SCIENTIFICA – ANNO 2019

La Sede Distaccata del Centro "Dino Ferrari" presso la U.O. di Neurologia e Laboratorio di Neuroscienze dell' Università degli Studi di Milano - IRCCS Istituto Auxologico Italiano ha prodotto nel 2019 un numero rilevante di contributi scientifici volti a definire i meccanismi patogenetici responsabili delle diverse patologie neurodegenerative e cerebrovascolari con attenta traslazione tra la clinica ed il laboratorio.

Le diverse patologie neurodegenerative - Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA) e Malattie del Motoneurone, Demenza Frontotemporale (FTD), Malattia di Alzheimer (AD) e altre Demenze, Malattia di Parkinson (PD) e parkinsonismi, Malattia di Huntington (HD) - sono state considerate mediante Centri dedicati alla valutazione clinica, raccolta di biomarcatori ed elaborazione di innovative strategie terapeutiche.

Parallelamente alla intensa attività clinica e di ricerca è proseguita la formazione di giovani medici, MD/PhD, biologi/biotecnologi che sono stati anche inviati per soggiorno in Laboratori sia in Nord America che in Europa. E', inoltre, proseguita, anche la formazione di giovani psicologi/neuropsicologi.

La crescita degli investimenti in apparecchiature dedicate in particolare alla genetica ed alla biologia molecolare ha dato rilievo alla collezione di materiale biologico ed ha permesso di continuare l'operato del Consorzio SLAGEN con un lavoro sinergico tra 10 diverse Istituzioni Italiane: il Centro "Dino Ferrari" continua a rappresentare un interlocutore internazionalmente riconosciuto per casistiche di pazienti affetti da diverse malattie neurodegenerative, di cui SLA/FTD in particolare. L'IRCCS Istituto Auxologico Italiano è entrato a far parte degli ERN Europei con riferimento alla patologia motoneuronale e neuromuscolare (ERN-MND). Il Centro SLA dell' IRCCS Istituto Auxologico Italiano è ammesso a far parte del Northeast ALS Consortium (USA), avviando una stretta collaborazione con diversi Centri Nord-Americani dedicati alle malattie del motoneurone ed alla SLA in particolare.

Il Centro ha aderito all'Italian Frontotemporal Dementia Network (FTD Group – SINDEM).

È proseguita sotto la direzione della U.O. di Neurologia l'attività della moderna Stroke Unit coordinata dalla Dott. Laura Adobbati, fornita di 6 letti di cui 4 con monitoraggio fisso che ha comportato l'acquisizione e la formazione di nuovo personale specializzato, medico e infermieristico. È stata avviata una intensa attività clinica con monitoraggio di diversi parametri funzionali e studio del sonno in pazienti ricoverati per ictus acuto, in stretta collaborazione con la U.O. di Cardiologia diretta dal Prof. Gianfranco Parati. La collaborazione con il Dipartimento di Neuroscienze della IRCCS Fondazione Ca' Granda Ospedale Maggiore – Università di Milano ha permesso di completare con successo molteplici procedure di trombolisi intraarteriosa con limitata incidenza di effetti collaterali, contando sulla consulenza neurochirurgica della medesima istituzione. L'utilizzo della RM 3 Tesla ha permesso di sviluppare adeguatamente diversi studi relativi alla patologia neurodegenerativa e cerebrovascolare. L'aprirsi degli interessi alla patologia cerebrovascolare ha fornito nuovi spunti di ricerca intersecati alla patologia neurodegenerativa: è maturato, infatti, un largo interesse per l'angiopatia amiloidotica primitiva dei vasi cerebrali.

Nel 2019 è stato ulteriormente sviluppato il Servizio di Neurofisiologia coordinato dal Dott. Luca Maderna, con studio Doppler del nervo periferico integrato all' EMG/ENG classico, con ulteriore definizione di una moderna tecnica per la determinazione del numero di motoneuroni fisiologicamente attivi (MUNE) e con studio della patologia nel sonno, mediante proficua interazione con la U.O. di Cardiologia diretta dal Prof. Gianfranco Parati. Nel 2019 l'IRCCS Istituto Auxologico Italiano ha continuato l'attività ambulatoriale di Via Procaccini, rivolto alla clientela internazionale ed asiatica in particolare che fa riferimento all'Istituzione per un pronto inquadramento diagnostico e terapeutico. In particolare, l'area extrapiramidale e le cefalee sono state implementate con ambulatori dedicati.

Nel 2019 è stato ulteriormente sviluppato il Servizio di Neuropsicologia e Psicologia Clinica coordinato dalla Dott.ssa Barbara Poletti, dove a fianco all'intensa attività clinica rivolta allo screening, alla diagnosi differenziale ed alla riabilitazione dell'impairment cognitivo e delle Demenze, nonché del sostegno psicologico ai pazienti affetti da patologia neurodegenerativa e dei loro caregiver, si sono ulteriormente approfondite alcune linee di ricerca che hanno visto la messa a punto e l'implementazione di innovativi test cognitivi indaganti in particolare le alterazioni frontali nei pazienti affetti da SLA tramite innovative metodiche atte a bypassare le limitazioni verbo-motorie che caratterizzano la suddetta patologia, quale l'Eye Tracking (ET). Inoltre, è stato ulteriormente sviluppato l'impiego, nella valutazione longitudinale dei pazienti SLA, della versione italiana dell'Edinburgh Cognitive and Behavioural ALS Screen (ECAS), strumento gold standard per l'assessment cognitivo-comportamentale dello spettro fronto-temporale nella SLA, sviluppata negli anni scorsi in collaborazione con la Prof.ssa Sharon Abrahams dell'Università di Edinburgh. Sono stati poi implementati percorsi multidisciplinari per la valutazione ed il trattamento sia della cefalea che dell'insonnia, quest'ultima in collaborazione con il Centro di Medicina del Sonno, diretto dalla Dott.ssa. Carolina Lombardi. La formazione di équipes multidisciplinari è stata perseguita ed è tutt'ora oggetto di sviluppo per diverse patologie al fine di implementare i percorsi di diagnosi e cura delle stesse. Infine sono stati sviluppati studi di ricerca dei pazienti affetti da patologia neurodegenerativa mediante l'utilizzo della RM 3 Tesla.

Un moderno ed umano approccio alle più temibili malattie neurodegenerative rappresenta, infatti, l'obiettivo perseguito della U.O. di Neurologia di cui il Centro "Dino Ferrari" è parte operante, vicino alla matrice storica della IRCCS Fondazione Ca' Granda Ospedale Maggiore di Milano dove è originariamente nato.

Il momento riabilitativo ha molto occupato l'attenzione del Centro "Dino Ferrari" che ha collaborato a disegnare le fasi successive alla diagnosi nelle diverse patologie, proponendo studi clinici ed innovativi approcci riabilitativi, in sintonia con gli organismi Sanitari Regionali anche per l'analisi dei costi.

La Sede Distaccata del Centro "Dino Ferrari" ha ulteriormente ottimizzato gli investimenti in ricerca presso il Centro di Ricerche e Tecnologie Biomediche di Cusano Milanino dove ha locazione il Laboratorio di Neuroscienze. L'acquisizione dell'apparecchiatura Illumina, piattaforma per l'analisi più approfondita di polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) in relazione alle patologie neurodegenerative di cui il Centro "Dino Ferrari" per tradizione si occupa, ha permesso di sviluppare ulteriormente il progetto di associazione genica tipo "genome wide" (GWAS) per la definizione di geni di suscettibilità nella SLA sporadica con l'importante contributo del Consorzio SLAGEN per la raccolta dei campioni di DNA e una sincronia di ricerca presso i diversi Centri Italiani. La diagnostica molecolare è stata ulteriormente arricchita potendo fornire oggi un pannello diagnostico completo per le malattie del motoneurone (SLA), le Demenze (FTD e la Malattia di Alzheimer), per i disturbi extrapiramidali (Malattia Parkinson): le malattie con amplificazione come la SLA legata al gene C9orf72 vengono separatamente sequenziate. Relativamente alla SLA/FTD, lo studio dell'esoma di un numero rilevante di pazienti affetti da SLA/FTD con componente familiare ha permesso di identificare nuovi geni causativi nell'ambito di una vasta collaborazione internazionale.

Analogamente, importante impulso è stato dato alla ricerca di biomarcatori proteici liquorali e sierici con l'acquisizione dell'apparecchiatura SIMOA che viene utilizzata inizialmente per la definizione dei valori sierici/liquorali del neurofilamento.

I rapporti con diversi ricercatori del Centro "Dino Ferrari" sono stati molto attivi con l'avanzamento di comuni progetti. In particolare, lo studio relativo alla caratterizzazione istochimica ed immunoistochimica di prelievi biotici di nervo e di muscolo di pazienti affetti da diversa patologia neuromuscolare (Prof. Maurizio Moggio) con analisi biochimica o molecolare in casi selettivi (Prof. Nero Bresolin, Prof. Giacomo Comi, Prof. Stefania Corti).

Nel 2019, inoltre, il Centro “Dino Ferrari” ha mantenuto la funzione direttiva nell’ ambito dell’ European ALS Consortium (ENCALS), organizzazione Europea dedicata allo sviluppo delle problematiche inerenti le malattie del motoneurone (il Prof. V. Silani ne è stato Chairman). Diversi Teaching Course sono stati organizzati nell’ ambito della European Academy of Neurology (EAN): il Prof. Silani è stato riconfermato co-chairman del l’EAN Subspeciality Scientific panel ALS and Frontotemporal Dementia (Dicembre 2015 - 2019).

Il Centro “Dino Ferrari” è inoltre rappresentato in diverse Commissioni della Regione Lombardia avendo attivamente partecipato alla elaborazione di diverse linee guida relative alla SLA, Malattia Neuromuscolari, Extrapiramidali e Demenza. Nel 2019 continua a svolgere parte attiva nel Consorzio Italiano della Demenza a Corpi di Lewy e nel Consorzio Italo-Tedesco per la FTD. Di notevole impatto è stato il ruolo riconosciuto nell’ European Reference Network for Rare Neuromuscular Diseases o EURO-NMD (2017). Il Prof. Silani è Referente SINDEM per la Piattaforma Italiana per le Malattie Neurodegenerative (ItalPlaNeD).

La migliore espressione dell’attività svolta dalla Sede Distaccata del Centro “Dino Ferrari” sta nell’ ulteriore consenso internazionale raggiunto nel 2019 anche per un rilevante numero di ricercatori (no. 3) che stanno svolgendo o hanno completato periodi formativi in qualificati Laboratori in Europa o nel Nord-America con cui il Centro “Dino Ferrari” ha scambi collaborativi di elevato livello. In particolare, la Dr.ssa Isabella Fogh si è occupata dello studio di geni modificatori regolanti la SLA sporadica. Nel 2019 ha studiato una popolazione europea di pazienti sporadici SLA portatori dell’espansione patologica G4C2 nel gene C9orf72. In collaborazione con il Professor John Powell e Professor Chris Shaw presso il Dipartimento di Clinical e Basic Neuroscience al King’s College London, ha analizzato dati genotipici di tutto il genoma (GWAS) in un gran numero di pazienti Europei e nord Americani raccolti da consortia internazionali quali SLAGEN, ALSGEN e Project MinE.

L’ IRCCS Istituto Auxologico Italiano è entrato a fare parte della Rete Italiana dei NeuroIRCCS ed il Prof. V. Silani ha spesso coadiuvato il Direttore Scientifico Prof. Gianfranco Parati nella esplicazione dei diversi compiti istituzionali, rappresentando l’ IRCCS in diverse occasioni. E’ divenuto Referente istituzionale nella Rete dei NeuroIRCCS. Nell’ ambito dei NeuroIRCCS sono stati anche stanziati due istituti virtuali per Demenze e Malattia di Parkinson di cui il Prof. Silani è entrato a fare parte nel Consiglio Direttivo.

Il Prof. Vincenzo Silani è parte all’ editorial Board di European Neurology, ALS/FTD, American Journal of Neurodegenerative Diseases e di Annals of Transplantation Research.

PRINCIPALI ARGOMENTI DI RICERCA

ELABORAZIONE DEI NUOVI CRITERI DIAGNOSTICI DELLA SCLEROSI LATERALE PRIMARIA (PLS)

La sede distaccata del Centro ha fornito un contributo rilevante alla stesura della nuova versione dei criteri diagnostici della sclerosi laterale primaria (PLS), forma rara di malattia del motoneurone sporadica dell’adulto caratterizzata dalla degenerazione isolata del primo motoneurone della corteccia cerebrale. Tale contributo è stato fornito nella persona del Professor Silani che ha fatto parte del comitato internazionale di esperti di PLS riunitosi ad hoc a Philadelphia (Pennsylvania, USA) il 3 maggio 2019. Con ciò è stato riconosciuto il ruolo storicamente svolto dal nostro centro nello studio di questa rara forma neurodegenerativa. Nei decenni passati si sono succedute varie versioni di criteri diagnostici di questa malattia, incentrate sul problema della differenziazione dalla più comune sclerosi laterale amiotrofica (SLA). La problematicità della distinzione è determinata principalmente dal fatto che in fase precoce le due malattie possono essere molto simili, potendo la SLA presentarsi clinicamente con segni di solo I motoneurone che possono rimanere isolati anche

per lungo tempo, mimando quindi una PLS. Ciò impedisce la distinzione in fase precoce, che però sarebbe importante in quanto: 1) le due malattie differiscono fortemente per prognosi quoad vitam, nettamente più maligna nel caso della SLA; 2) le due malattie richiedono terapie differenti; 3) la diagnosi precoce è condizione necessaria per l'arruolamento dei pazienti in studi farmacologici sperimentali. Per i motivi sopra citati, i criteri diagnostici tradizionali richiedevano un intervallo di tempo minimo dall'esordio dei sintomi per poter porre la diagnosi, che ammontava a 4 anni nella ultima versione in uso. I nuovi criteri elaborati nel meeting del 2019 hanno ridotto l'intervallo di tempo minimo richiesto a 2 anni, introducendo la categoria di "PLS probabile", mentre l'intervallo di tempo rimane 4 anni per formulare una diagnosi di "PLS definitiva". Rilevante è la trattazione, nell'ambito del nuovo documento di consenso, delle nuove metodiche di indagine in questa malattia (soprattutto con riferimento al neuroimaging, alla neurofisiologia e ai biomarcatori liquorali e dei fluidi periferici), alle quali, seppur non ancora incluse nei criteri diagnostici, viene riconosciuto un ruolo di crescente rilevanza nello studio della patologia. Il principale elemento di innovazione contenuto nei nuovi criteri diagnostici consiste nella riduzione del tempo necessario per porre una diagnosi di PLS con l'obiettivo di raggiungere una diagnosi precoce e conseguentemente un arruolamento precoce dei pazienti in studi sperimentali.

STUDIO DEL GENE PON1 COME GENE MODIFICATORE DEL FENOTIPO NELLA SCLEROSI LATERALE AMIOTROFICA

In questo studio è stato genotipizzato il gene *PON1* in una ampia coorte di pazienti con SLA seguiti nel nostro Centro (n = 409). Tale gene codifica per la paraoxonasi 1, enzima deputato alla detossificazione di composti organofosfati nonché coinvolto nel metabolismo delle lipoproteine plasmatiche. Diversi studi in passato hanno riportato una associazione di polimorfismi di singolo nucleotide (SNPs) in questo gene e in geni correlati (codificanti altri enzimi della famiglia) con il rischio di sviluppare la SLA sporadica. Lo studio di questa famiglia di geni era stato avviato a partire da evidenze epidemiologiche di un possibile ruolo dei composti organofosfati come fattori di rischio tossico-ambientali per la malattia. Il nostro è invece uno studio di soli casi mirato alla caratterizzazione del gene *PON1* come possibile gene modificatore del fenotipo della malattia. In particolare abbiamo analizzato il polimorfismo rs662, già associato al rischio di SLA in studi caso-controllo precedenti. In effetti è risultato che l'allele minore G di questo SNP è associato all'esordio della malattia a livello del distretto bulbare (in opposizione all'esordio spinale) ed è indipendentemente associato ad una minore sopravvivenza. Tale polimorfismo è codificante, ovvero si traduce in una diversità di aminoacido nella sequenza proteica della relativa proteina, e le due varianti dell'enzima differiscono per affinità di substrato ed efficienza catalitica. Ne consegue che la associazione genotipo-fenotipo che abbiamo riscontrato nella nostra casistica potrebbe riflettere meccanismi eziopatogenetici e fisiopatologici della malattia, in cui potrebbe avere un ruolo la diversa suscettibilità di diverse categorie di motoneuroni a fattori tossici – ambientali o eventualmente anche endogeni – innescanti o influenzanti il processo neurodegenerativo.

STUDIO DI BIOMARCATORI LIQUORALI DI DEGENERAZIONE ASSONALE E NEUROINFIAMMAZIONE MICROGLIALE NELLA SCLEROSI LATERALE PRIMARIA (PLS)

In questo studio sono state analizzate le concentrazioni dei due biomarcatori pNFH e Chit1 nel liquor dei pazienti con sclerosi laterale primaria (PLS), dei pazienti con sclerosi laterale amiotrofica (SLA) e in controlli non affetti da patologie neurodegenerative o patologie infiammatorie del sistema nervoso centrale. pNFH, ovvero la forma fosforilata della catena pesante dei neurofilamenti, è un biomarcatore di degenerazione assonale. Chit1, o

chitotriosidasi, è un enzima prodotto da monociti, macrofagi e microglia e rappresenta un biomarcatore di neuroinfiammazione microgliale. Entrambi i biomarcatori sono stati negli ultimi anni approfonditamente studiati nella SLA ed hanno un ruolo stabilito (nel caso di pNFH) o promettente (nel caso di Chit1) in ambito diagnostico e prognostico in questa malattia. Molto meno note sono le loro alterazioni nella PLS, che rappresenta una variante rara di malattia del motoneurone in cui, a differenza che nella SLA in cui sono coinvolti sia il I sia il II motoneurone, la patologia è limitata al solo I motoneurone. Le ragioni risiedono nella rarità della PLS (circa 5% dei casi di malattie del motoneurone), sia nella ridotta diffusione della pratica del prelievo di liquor nel percorso diagnostico di questa malattia (che limita lo studio dei relativi biomarcatori liquorali). Tuttavia la ricerca sui biomarcatori nella PLS è urgente perché ad oggi manca un biomarcatore diagnostico specifico per questa patologia. In particolare occorre un biomarcatore che consenta una differenziazione precoce della PLS rispetto alla SLA. Tale differenziazione precoce è attualmente impossibile in quanto la SLA può esordire con un quadro clinico caratterizzato da soli segni di I motoneurone ai quali solo dopo un tempo anche lungo si aggiungono i segni di II motoneurone; in accordo con ciò, gli attuali criteri diagnostici richiedono che trascorra un tempo minimo di 3 anni dall'esordio della sintomatologia per formulare una diagnosi definitiva di PLS. Questo comporta: 1) un lungo periodo di incertezza diagnostica che si riflette anche in supplementare carico psicologico per il paziente; 2) un ritardo nella introduzione della corretta terapia farmacologica, che differisce tra le due malattie; 3) l'impossibilità di effettuare trial farmacologici nella fase precoce della PLS. Nel nostro studio abbiamo misurato i livelli liquorali di pNFH e Chit1 in 10 pazienti con PLS, 28 pazienti con SLA e 30 controlli. Per entrambi i biomarcatori esiste un gradiente di concentrazione decrescente SLA > PLS > controlli. Entrambi sono significativamente più elevati nella SLA rispetto ai controlli e nella PLS rispetto ai controlli, fornendo buone performance diagnostiche per entrambe le malattie (migliori per pNFH e migliori nella differenziazione tra SLA e controlli). Particolarmente interessante è tuttavia la differenza tra i livelli dei due biomarcatori nella PLS e nella SLA, che comporta una buona performance diagnostica (anche in questo caso migliore per pNFH) nella differenziazione della PLS (caratterizzata da livelli più bassi) rispetto alla SLA. Viene così proposto un ruolo di pNFH e in minor misura di Chit1 per la diagnosi differenziale precoce delle due malattie, che potrebbe comportare dei progressi soprattutto relativi all'arruolamento precoce dei pazienti con PLS in studi farmacologici sperimentali.

SVILUPPO DI UNA NUOVA PIATTAFORMA TECNOLOGICA PER UNA DETTAGLIATA CARATTERIZZAZIONE FENOTIPICA E L'IDENTIFICAZIONE PRECOCE DI BIOMARCATORI BIOMOLECOLARI IN PAZIENTI AFFETTI DA PATOLOGICHE NEUROLOGICHE E CARDIOVASCOLARI.

Nel 2019 è stato approvato dal Ministero della Salute il progetto, promosso dal nostro Centro, incentrato sullo sviluppo di nuovi biomarcatori fenotipici e biomolecolari in primis nelle malattie neurodegenerative. Il progetto ha consentito tra l'altro l'acquisizione e l'utilizzo dell'analizzatore SR-X, strumento di immunoassay digitale ("ELISA digitale") basato sulla innovativa tecnologia single molecule array (Simoa). Negli ultimi anni lo studio dei biomarcatori molecolari ha acquisito sempre maggiore rilevanza nell'ambito della ricerca sulle malattie neurologiche in generale e neurodegenerative in particolare. I biomarcatori fluidi nelle malattie neurodegenerative hanno molteplice valenza: 1. Contribuiscono alla chiarificazione dei meccanismi eziopatogenetici di malattia; 2. Possono essere misurati a scopo diagnostico; 3. Possono avere significato prognostico; 4. Possono contribuire alla stratificazione dei pazienti negli studi di coorte, in particolare nei trial clinici relativi a farmaci sperimentali; 5. Possono fornire indicazioni sul "target engagement" e la risposta terapeutica nei trial farmacologici stessi. Tradizionalmente lo studio dei biomarcatori nelle malattie

neurologiche è stato incentrato sul liquido cerebrospinale, in ragione della contiguità anatomica di questo fluido biologico con il tessuto affetto in queste condizioni. Tuttavia negli ultimi anni il progresso delle tecnologie di proteomica, ed in particolare lo sviluppo della tecnologia Simoa, ha consentito, grazie ad un aumento della sensibilità delle metodiche di misurazione, di rilevare molecole presenti in concentrazioni inferiori ai limiti di rilevazione delle precedenti tecnologie. È divenuto quindi possibile misurare molecole di provenienza liquorale anche nel sangue periferico (siero o plasma), dove esse sono presenti in concentrazioni nettamente inferiori. Parallelamente, diventano dosabili su liquor alcune molecole di rilevanza fisiopatologica precedentemente non dosabili a causa delle loro basse concentrazioni. L'analizzatore SR-X con tecnologia Simoa acquisito dalla nostra UO verrà utilizzato per la misurazione delle concentrazioni di biomarcatori nei liquidi biologici di pazienti affetti da malattie neurodegenerative. Le molecole da misurare possono essere rappresentate da biomarcatori di comprovata validità in ambito clinico, da molecole candidate al ruolo di biomarcatore clinico sulla base di evidenze fornite da studi preclinici, e da molecole per le quali evidenze sperimentali suggeriscono una rilevanza fisiopatologica nelle malattie in oggetto, la quale può essere supportata dalla misurazione delle relative concentrazioni in diverse condizioni sperimentali e patologiche. Gli obiettivi dell'utilizzo della strumentazione Simoa sono la validazione, in ampie casistiche di pazienti, di biomarcatori proposti da studi precedenti per le malattie in oggetto, l'individuazione di nuovi biomarcatori e l'approfondimento dei meccanismi biologici di malattia.

IDENTIFICAZIONE DI NUOVI FATTORI DI RISCHIO GENETICI ASSOCIATI ALLA SCLEROSI LATERALE AMIOTROFICA MEDIANTE NEXT-GENERATION SEQUENCING

Nel corso del 2019, il Centro ha proseguito la fruttuosa collaborazione internazionale finalizzata al sequenziamento dell'esoma/genoma di pazienti affetti da SLA (FALS Sequencing Consortium), al fine di identificare varianti rare associate alla suscettibilità per la malattia, utilizzando diverse strategie di analisi (*rare-variant burden analysis*, RVB; analisi manuale delle varianti identificate mediante NGS). Rispetto agli anni precedenti è stata ampliata la coorte di pazienti raggiungendo una casistica di circa 2000 pazienti affetti da SLA familiare e sporadica. Tale approccio ha prodotto i seguenti risultati:

a) Identificazione di varianti di suscettibilità per la SLA nel gene ARPP21.

Come menzionato precedentemente, i dati NGS ottenuti dallo screening della nostra coorte SLA sono stati studiati anche mediante analisi manuale. A questo scopo, abbiamo studiato una coorte di 8.700 pazienti affetti da SLA (di cui circa 500 Italiani) e selezionato manualmente come possibili candidate tutte le nuove varianti ricorrenti in più famiglie SLA. Questa analisi ci ha consentito di identificare 20 mutazioni missenso ricorrenti nel gene *ARPP21*, codificante per una proteina di legame per RNA, in 47 pazienti affetti da SLA non imparentati fra loro. Le mutazioni più frequentemente identificate sono state p.P563L (17 casi), p.P747L (8 casi) e p.P563Q (3 casi). Queste mutazioni non sono state individuate in esomi di controllo (per p.P563L e p.P563Q $n > 27.400$, per il resto $n > 77.900$) e, nel caso di p.P563L, segregavano con la malattia in due famiglie SLA Italiane e Inglese. L'analisi immunoistochimica dei motoneuroni del midollo spinale in un caso di SLA portatore della mutazione p.P563L ha rivelato la presenza di inclusioni citoplasmatiche di TDP-43 fosforilata, ma non di ARPP21. Tuttavia, la maggior parte delle mutazioni individuate, localizzate a livello del dominio a bassa complessità C-terminale della proteina, generano aggregati citoplasmatici insolubili positive per ARPP21 in linee cellulari trasfettate, nonché in neuroni derivati dalla corteccia di ratto e in linee iPSC umane. ARPP21 mutante, inoltre, sembra indurre mislocalizzazione di TDP-43 endogena nel citoplasma con secondaria formazione di aggregati proteici insolubili; tale fenomeno viene abolito dopo aggiunta di

RNasi. Complessivamente, questi risultati suggeriscono che le mutazioni di ARPP21 esercitano la loro tossicità inducendo aggregazione di citoplasmatica TDP-43 mediante un processo RNA-mediato. A differenza di tutti gli altri geni precedentemente associati alla SLA familiare, *ARPP21* è espresso esclusivamente nel citoplasma dei neuroni del sistema nervoso centrale, suggerendo come l'aggregazione citoplasmatica di TDP-43 rappresenti un evento precoce e neurono-specifico nella cascata patogenetica della malattia.

b) Identificazione di varianti di suscettibilità per la SLA nel gene ABC.

Mediante screening NGS di un trio composto da un paziente affetto da SLA giovanile e dai genitori non affetti, è stato possibile identificare una nuova variante missenso nel gene *ABC* (nome fittizio), codificante per un enzima coinvolto nella sintesi degli sfingolipidi. La stessa mutazione è stata successivamente osservata in un altro caso di SLA giovanile non imparentato, rafforzandone così il possibile ruolo patogenetico. Lo screening di una coorte di controllo composta da >5.000 pazienti affetti da SLA familiare e sporadica (di cui >1.100 raccolti dal FALS Sequencing Consortium) ha consentito di identificare altre 19 mutazioni di *ABC* in altrettanti pazienti affetti da SLA. Studi funzionali hanno dimostrato come la proteina mutante abbia ridotta attività enzimatica, con conseguente formazione di metaboliti intermedi tossici; tali molecole sono state osservate anche nel siero dei pazienti portatori delle mutazioni in *ABC*. E' di particolare rilievo l'osservazione che il trattamento con il coenzima di *ABC* sia in grado di determinare una reversione del fenotipo in modelli cellulari.

c) Disegno di pannelli genetici customizzati per la SLA ed altre malattie neurodegenerative.

Le recenti scoperte genetiche a cui il Centro ha in larga parte contribuito negli ultimi anni, hanno consentito di ottenere una migliore caratterizzazione genotipo-fenotipo nella SLA e di comprenderne le possibili sovrapposizioni con altre patologie neurodegenerative. A tal fine, il Laboratorio di Neuroscienze ha ottimizzato un pannello genetico NGS su piattaforma Illumina per la diagnostica molecolare di SLA e altre malattie del motoneurone, demenze degenerative, parkinsonismi e patologie cerebrovascolari. Tale pannello, al momento comprende i seguenti geni: *ALS2*, *ANG*, *ANXA11*, *APOA1*, *APOE*, *APP*, *ARPP21*, *ATP13A2*, *ATP1A3* (*DYT12*), *ATP6AP2*, *CHCHD10*, *CHMP2B*, *CST3*, *DAO*, *DCTN1*, *DJ1* (*PARK7*), *DNAJC13*, *DNAJC6*, *EIF4G1*, *FBXO7* (*PARK15*), *FUS*, *GBA*, *GCH1* (*DYT5*), *GIGYF2* (*PARK11*), *GRN*, *GSN*, *HNRNPA1*, *HNRNPA2/B1*, *HTRA2*, *LRKK2*, *MAPT*, *MATR3*, *NEFH*, *NEK1*, *NOTCH3*, *OPTN*, *PACRG*, *PARK2*, *PFN1*, *PINK1* (*PARK6*), *PLA2G6* (*PARK14*), *PRKRA* (*PARK16*), *PRNP*, *PRPH*, *PSEN1*, *PSEN2*, *RAB39B*, *SETX*, *SNCA*, *SOD1*, *SORL1*, *SPAST*, *SPG11*, *SQSTM1*, *TAF1* (*DYT3*), *TARDBP*, *TBK1*, *TH* (*DYT5*), *TREM2*, *TTR*, *TUBA4A*, *UBQLN2*, *UCHL1*, *VAPB*, *VCP*, *VPS13C*, *VPS35*. Nel corso del 2019 sono stati analizzati circa 150 pazienti.

THE ROLE OF THE NOVEL NEK1 AND C21ORF2 GENES ASSOCIATED TO DNA REPAIR IN THE PATHOGENESIS OF AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS

(Progetto DREPALS, finanziato dal Ministero della Salute, Bando Giovani Ricercatori – PI Dott.ssa Cinzia Tiloca, Prof. Nicola Ticozzi)

I geni *NEK1* e *C21orf2* rappresentano fattori di rischio per la SLA in quanto, come precedentemente da noi pubblicato, varianti missenso rare e mutazioni LOF in *NEK1* sono presenti, rispettivamente, in >3% e nell'1.2% dei pazienti affetti da SLA rispetto allo 0.2% dei controlli (Kenna et al., 2016), mentre il polimorfismo p.V58L nel gene *C21orf2* è risultato associare alla malattia, più dei geni *SARM1* e *UNC13A*, in un grosso studio GWA condotto in collaborazione su >15.000 casi SLA e >25.000 controlli (van Rheenen et al 2016).

L'identificazione di questi due fattori di rischio è di particolare interesse in quanto essi sembrano essere coinvolti in un medesimo pathway cellulare, convergendo entrambi nei meccanismi di riparazione del danno al DNA e rinforzando così il dato genetico quali fattori

di suscettibilità. Tuttavia poiché un solo lavoro dimostra l'interazione tra NEK1, una chinasi coinvolta nei primi step di riparazione del DNA, e la proteina C21orf72, obiettivo del presente progetto è quello di indagare a livello funzionale l'impatto delle varianti genetiche identificate nei pazienti SLA sull'efficacia di riparo del danno al DNA. In particolare, sono state studiate le due varianti più frequenti, NEK1 p.R261H e C21orf2 p.V58L, in un paradigma sperimentale di danno al DNA indotto con l'agente radiomimetico neocarzinostatina (NCS). Dopo generazione dei cosrutti wild-type e mutanti per entrambi i geni e over-espressione in cellule U2OS, sono state valutate sia la distribuzione sub-cellulare dei due mutanti in condizioni normali ed in seguito ad induzione del danno, sia la capacità di recovery del danno al DNA nel tempo. I nostri dati preliminari indicano che le proteine ricombinanti mutate mostrano una distribuzione diversa in seguito a danno rispetto alle proteine wild-type e, in particolare, la proteina NEK p.R261H mostra una ridotta capacità di riparazione del danno al DNA, valutata quantitativamente con il marcatore istonico γ H2A.

In parallelo una grossa casistica di 600 casi SLA sporadici e familiari è stata da noi analizzata per identificare possibili nuovi varianti rare nei geni NEK1 e C21orf2 e valutarne la frequenza nella popolazione italiana. I dati genetici indicano la ricorrenza della variante NEKp.R261H, ma anche la presenza di varianti missenso rare (4%) e LOF (1%), alcune delle quali mai descritte, così come varianti rare missenso in C21orf2. Alcune di tali varianti saranno selezionate e studiate funzionalmente nel bioassay di DNA al danno messo a punto nel laboratorio per valutarne l'effetto a livello biologico.

GENOME WIDE ASSOCIATION STUDY (GWAS) OF GENETIC MODIFIERS IN SPORADIC AMYOTROPHIC LATERAL SCEROSIS AND C9orf72 CARRIERS

Nonostante l'aspettativa media di vita non superi i tre anni, il 5% dei pazienti SLA può vivere più di una decade. Allo scopo di studiare tale variabilità, abbiamo cercato possibili geni modificatori associati al sub-phenotype survival. Nel 2015-16, la Dr. Fogh ha raccolto dati clinici di circa 6000 pazienti Europei e Nord Americani, i dati genotipici originali presenti sulle piattaforme GWAS sono stati amplificati tramite analisi di imputazione genome wide. Oltre 7 milioni di SNPs sono stati poi analizzati per associazione con il survival utilizzando un metodo statistico innovativo quale la Cox Proportional Hazard regression (CPH) analysis su scala genomica (ProbABEL program). Tale metodo ha permesso di studiare ogni singolo polimorfismo come fattore rischio di morte indipendente, portando all'identificazione di un nuovo gene, *CAMTA1*, associato ad una ridotta sopravvivenza di circa 4 mesi. Tali risultati sono stati pubblicati sulla rivista JAMA Neurology (Fogh et al. 2016).

Nel 2017 la Dr. Fogh ha studiato geni modificatori che regolano l'età di insorgenza e il tempo di sopravvivenza in pazienti sporadici SLA portatori dell'espansione patologica G4C2 nel gene C9orf72. Dati genotipici e clinici erano disponibili per 371 carriers di origine europea con fenotipo SLA e SLA-FTD (~30%) forniti dai nostri collaboratori del Project MinE e dello SLAGEN Consortia. Tramite il metodo di genome wide CPH sopra descritto e di regressione lineare sono stati analizzati rispettivamente per associazione con survival ed età di insorgenza più di 7 milioni di varianti geniche. Il locus 6p2.1 è risultato significativamente associato ($P < 5 \times 10^{-8}$) all'età di esordio nei C9orf72 carriers ma non nei pazienti SLA negativi per tale mutazione. I carriers con il genotipo rischio CG correlano con un anticipo di 9 anni dell'età di esordio. L'identificazione di questo gene potrebbe consentire studi di follow up clinici con farmaci mirati che potrebbero ritardare l'esordio del fenotipo SLA. Questi risultati preliminari sono stati presentati al 28th MND Association Symposium 2017 a Boston nel Dicembre 2017 ed hanno ottenuto ulteriori finanziamenti dalla MOTOR NEURONE DISEASE ASSOCIATION UK (MND Association) (Project 9/828) per uno studio di follow up. Il nuovo progetto internazionale prevede la raccolta di una coorte allargata a più di

1,000 C9orf72 carriers ed includerà anche pazienti affetti da sola FTD o portatori pre-sintomatici. Dati genotipici e campioni di DNA verranno forniti dai nostri collaboratori di diversi Consortia quali Project MinE, SLAGEN, ITALGEN, CORIELL Institute e GENFI. La Dr. Fogh investigherà geni modificatori associati a diversi sub-fenotipi quali lo status cognitivo/comportamentale o la velocità di progressione della malattia del moto neurone e fronto-temporale.

iPSC: UN MODELLO PER LO STUDIO DELLE INTERAZIONI TRA CELLULE NEURALI NELLE MALATTIE NEURODEGENERATIVE

Le cellule pluripotenti indotte (iPSCs) sono ad oggi il modello sperimentale maggiormente utilizzato per studi funzionali *in vitro*, in particolare per le malattie neurodegenerative nelle quali non è possibile ottenere cellule neuronali primarie da paziente. Le iPSCs sono infatti in grado di differenziare in qualsiasi tipo di cellula dell'organismo e le loro potenzialità sono limitate solamente dalla disponibilità di un adeguato protocollo di differenziamento. Posso inoltre replicarsi infinitamente al pari delle cellule embrionali. Nel nostro laboratorio sono stati ottimizzati sia la riprogrammazione da sangue periferico e da fibroblasti di iPSCs, che due protocolli per l'ottenimento di motoneuroni (particolarmente utili nello studio della SLA) e neuroni corticali. Durante il 2019 è proseguita l'attività di raccolta e riprogrammazione di campioni di sangue periferico e fibroblasti cutanei sia di donatori che di pazienti affetti da SLA incrementando quindi i campioni presenti nella banca iPSCs. Si è concluso lo studio comparativo di iPSCs riprogrammate da sangue periferico e da fibroblasti dello stesso paziente portatore di una espansione C9ORF72 (Bardelli et al, J Cell Mol Med, in press).. Diverse caratteristiche legate a questa mutazione sono state valutate in motoneuroni differenziati da entrambe le iPSCs. Sebbene il modello delle iPSCs si sia dimostrato un valido strumento per lo studio *in vitro* di cellule umane neuronali sane o patologiche, crescendo in adesione, rappresentano un modello cellulare bi-dimensionale con alcune limitazioni. Gli organoidi cerebrali derivanti da iPSCs, sono invece in grado di mimare fedelmente il neuro-sviluppo endogeno essendo strutture tridimensionali in grado di riprodurre accuratamente le interazioni tra diverse cellule neuronali. Le cellule dell'organoide acquisiscono spontaneamente l'identità dai diversi distretti tissutali del cervello. Campioni di iPSCs da pazienti affetti da SLA e da donatori sani sono stati inviati al Max Planck Institute Leipzig (Germany) nell'ambito di una collaborazione dove verranno originati organoidi cerebrali che verranno successivamente analizzati nel nostro laboratorio. Proseguono inoltre le collaborazioni in atto con gruppi diversi. Con l'istituto di Farmacologia dell'Università di Milano si è concluso lo studio che prevedeva di testare una miscela in grado di modulare il differenziamento e la crescita cellulare su due linee di iPSCs da donatori sani e motoneuroni derivanti ed il lavoro è stato sottomesso. In merito a due collaborazioni con l'Istituto C. Besta ed il Laboratorio di Citogenetica dell'Istituto Auxologico, sono state riprogrammate cellule da sangue periferico di pazienti affetti da FTD e Smith-Magenis ed in entrambi i casi sono stati differenziati neuroni corticali. La caratterizzazione dei neuroni ottenuti è in corso allo scopo di studiare alcuni meccanismi sottostanti le patologie.

GENOMIC INSTABILITY OF EXPANDED REPEATS IN HD AND ALS/FTD

(Progetto Repetomics, E-Rare-3 Call JTC 2018 – Prof. Vincenzo Silani)

Nell'ambito di questo progetto europeo, l'obiettivo è lo studio e la caratterizzazione della instabilità genomica che contraddistingue le patologie da espansione di sequenze ripetute, incluse SLA/FTD con il gene C9orf72 e la malattia di Huntington per quanto riguarda le poliQpatie. In queste patologie, infatti, si assiste a instabilità della sequenza espansa, con il presentarsi non solo del fenomeno dell'anticipazione genetica nelle generazioni successive, ma anche nei vari tessuti dello stesso paziente con mosaicismi somatici più o meno marcato.

Dati di letteratura, anche se pochi, indicano che all'interno del sistema nervoso centrale stesso possono esserci differenze regionali per quanto riguarda l'entità d'espansione del gene C9orf72 con il cervelletto che va incontro a maggior instabilità genomica rispetto ad altre aree cerebrali. Risultati analoghi di instabilità genomica del tratto CAG, anche se più contenuta, si verificano anche nel cervello di pazienti HD.

Al fine di poter meglio comprendere i meccanismi alla base di tale instabilità e l'effetto sul SNC e sul fenotipo malattia, ampiamente variabile nei pazienti SLA/FTD così come nei pazienti HD, il progetto si pone obiettivi specifici ai quali i singoli partner contribuiscono con diversi approcci sperimentali. Il nostro gruppo collabora al progetto studiando l'instabilità genomica delle cellule iPSC-C9orf72, mantenute in coltura e poste a differenziare verso motoneuroni e neuroni corticali, nonché a organoidi, per seguire come e se l'espansione patologica di C9orf72 cambia nei vari processi di differenziamento e sviluppo neuronale. Oggetto di studio sono anche iPSC-C9orf72 che sono state da noi generate quest'anno a partire dai fibroblasti di 5 membri di una famiglia canadese in cui da una mutazione di 70 unità nel padre si è passati ad espansioni >1300 unità nella progenie, confermando il fenomeno dell'instabilità genomica. Abbiamo preliminarmente caratterizzato alcuni cloni ottenuti, ma la caratterizzazione andrà proseguita nel corso del nuovo anno.

Altro obiettivo del progetto, strettamente correlato allo studio dell'instabilità genomica, è la messa a punto di un metodo analitico-diagnostico per la determinazione dell'entità dell'espansione nel caso del gene C9orf72 dove le ripetizioni possono raggiungere fino a 4000 unità di espansione. I saggi diagnostici attualmente utilizzati non permettono di definire l'entità dell'espansione, ma solo la sua presenza, non consentendo di fatto di determinare alcuna correlazione tra genotipo e fenotipo come invece già stato fatto nelle altre patologie da espansione. Inoltre il Southern blot, unico metodo disponibile per la quantificazione, risulta essere particolarmente difficoltoso da eseguire per l'elevato mosaicismo somatico del gene C9orf72 mutato e per la sua metilazione che rendono i risultati spesso non interpretabili e indefinibili. Per tale scopo innovativi metodi d'analisi del DNA, compreso l'approccio con strumentazione Bionano, saranno applicati all'interno del progetto e il nostro contributo di una grossa casistica di DNA genomico da pazienti SLA/FTD mutati in C9orf72 sarà fondamentale per la definizione dell'ampia variabilità/instabilità nell'espansione.

MECCANISMI PATOGENICI DI SLA: GRANULI DA STRESS e RISPOSTA ALLO STRESS OSSIDATIVO IN FIBROBLASTI E IN MOTONEURONI DIFFERENZIATI DA CELLULE iPSC DI PAZIENTI SLA

(Progetto TRANSALS, finanziato da Fondazione Regionale per la Ricerca Biomedica, Regione Lombardia - Prof. V. Silani e Prof.ssa Antonia Ratti)

Aggregati citoplasmatici della proteina TDP-43 fosforilata rappresentano un marker neuropatologico della SLA e della FTD. Un'ipotesi patogenetica, sostenuta da molte evidenze sperimentali, circa la formazione nel citoplasma degli aggregati patologici di TDP-43 nei tessuti cerebrali affetti da SLA consiste nella precoce formazione, in seguito a insulti cellulari di varia natura, di Stress granules che poi degenererebbero in inclusioni proteiche. La risposta allo stress mediante formazione di Stress granules comporta un temporaneo arresto della traduzione ed è solitamente studiata in condizioni di insulto acuto sub-letale in vitro, non rispecchiando la situazione di stress cronico, tipico di una malattia neurodegenerativa. Inoltre la mancanza di modelli cellulari sperimentali di malattia che siano in grado di riprodurre gli aggregati patologici di TDP-43 osservati nei tessuti autoptici dei pazienti limita ad oggi lo screening di molecole candidate in grado di agire sull'aggregazione patologica di TDP-43 e quindi di nuovi approcci terapeutici.

Abbiamo quindi ottimizzato in vitro una condizione di stress cronico prolungato mediante esposizione a sodio arsenite utilizzando colture primarie di fibroblasti disponibili nella nostra

Biobanca e comprendenti 3 diverse linee di fibroblasti SLA con mutazione nel gene TARDPB (p.A382T), 3 con mutazione nel gene C9orf72 e 3 linee derivate da individui sani di controllo. Il trattamento con sodio arsenite 15µM per 30 ore si è rivelato il trattamento ottimale sui fibroblasti in termini di formazione di Stress granules. I nostri risultati indicano che tutte le linee rispondono allo stress ossidativo da arsenite cronica formando granuli da stress in modo diverso tra cellule SLA e cellule controllo, con le cellule SLA che rispondono meno all'insulto formando meno granuli. Un'analisi quantitativa con ImageJ ha mostrato che mentre la dimensione dei granuli non varia tra le diverse linee, i granuli sono mediamente più grandi in seguito ad insulto cronico rispetto ad insulto acuto, suggerendo una diversa composizione dei granuli stessi o la fusione di più granuli in condizioni di stress cronico. Inoltre la proteina TDP-43 co-localizza coi granuli da stress in modo specifico solo in condizione di stress cronico, contrariamente a quanto da noi osservato in linee commerciali in seguito ad insulto acuto (Colombrita et al, 2009), suggerendo che le linee primarie di fibroblasti mettono in atto risposte allo stress diverse rispetto a modelli cellulari immortalizzati. Soltanto in condizioni di stress cronico, si osserva anche una disregolazione dell'autofagia con aumento dei marcatori autofagici p62 e LC3 e la formazione di aggregati p-62 positivi. Insieme alla formazione di stress granules inoltre si ha la formazione di distinti aggregati di TDP-43 fosforilato, molto simili agli aggregati patologici osservati nei tessuti autoptici di pazienti SLA/FTD.

Essendo i motoneuroni le cellule che degenerano nella SLA, abbiamo quindi esteso i nostri studi a cellule motoneuronali umane derivate da cellule iPS (iPS-MN) per testare l'ipotesi che la formazione di Stress granules possa avvenire anche in cellule neuronali sottoposte ad un insulto ossidativo cronico. Avendo il nostro laboratorio riprogrammato molte linee di fibroblasti SLA in cellule staminali iPS e avendo ottimizzato un efficiente protocollo di differenziamento motoneuronale, abbiamo riprodotto le condizioni di insulto ossidativo da arsenite sia acute che croniche, ottimizzando le condizioni di trattamento su questo modello. La dose di ARS 10uM per 24 ore si è rivelata la condizione cronica ottimale in termini di formazione di Stress granules nelle iPS-MN. Come nei fibroblasti, la proteina TDP-43 co-localizza coi granuli da stress in modo specifico solo in condizione di stress cronico ed i granuli sono mediamente più grandi in seguito ad insulto cronico rispetto ad insulto acuto. Inoltre, in condizioni di stress cronico, si osserva anche nelle iPS-MN, come nei fibroblasti, la disregolazione dell'autofagia con aumento della proteina p62 e la formazione di aggregati di proteina TDP-43 fosforilata, distinti dagli Stress granules.

I risultati da noi ottenuti utilizzando sia colture primarie di fibroblasti di pazienti SLA che motoneuroni derivati da iPSC SLA supportano l'ipotesi patogenica che i granuli da stress possano rappresentare il primo step nella formazione degli aggregati patologici di TDP-43 osservati nei tessuti cerebrali SLA. Abbiamo inoltre ottenuto un nuovo modello malattia di aggregazione di TDP-43 fosforilata, che rappresenta un prezioso bioassay per lo studio della patologia TDP-43 e per lo sviluppo di strategie terapeutiche mirate alla disaggregazione e/o alla inibizione della formazione delle inclusioni patologiche di TDP-43 tipiche della SLA/FTD.

STUDIO DELLA METILAZIONE DEL GENE C9ORF72 COME FATTORE MODIFICATORE DEL FENOTIPO CLINICO e DEI MARCATORI NEUROPATOLOGICI IN MODELLI CELLULARI SLA/FTD

(Progetto Ministero della Salute, Ricerca Finalizzata - Prof. V. Silani)

Poiché alcuni dati di letteratura indicano che la metilazione del promotore del gene C9orf72 possa essere neuroprotettiva in caso di presenza dell'espansione patologica in quanto diminuirebbe la trascrizione dell'RNA mutato, dopo aver confermato che anche nella nostra coorte di pazienti SLA la metilazione è presente in circa il 30% dei pazienti mutati C9orf72

ma non negli altri pazienti SLA, abbiamo esteso i nostri studi anche a cellule iPSC derivate dai pazienti stessi. Le iPSC sono, infatti, molto utilizzate per studiare i meccanismi patogenetici nella SLA e, in particolare per il gene C9orf72, anche per testare possibili approcci terapeutici (oligonucleotidi antisense, molecole) in grado di bloccare la tossicità degli RNA C9orf72 espansi e ridurre la formazione dei foci di RNA patologici. Tuttavia i modelli sperimentali iPSC-C9 sono molto diversi tra loro a causa della diversa espansione patologica tipica di ciascun paziente e non sono per niente noti gli effetti della metilazione del promotore di C9orf72 in queste cellule. Per studiare se la modificazione epigenetica di C9orf72 può agire da fattore modificatore nella patologia associata alle mutazioni nel gene, abbiamo studiato sia la metilazione del promotore genico che la metilazione della stessa sequenza esanucleotidica G4C2 ripetuta che forma siti CpG quando è espansa. Abbiamo poi valutato l'effetto della metilazione sull'espressione genica delle varie isoforme del gene C9orf72 e sulla formazione dei foci di RNA. Il nostro studio, iniziato su tre linee iPSC mutate C9orf72 e già riprogrammate nel nostro laboratorio, si è quest'anno esteso ad un totale di 8 diverse linee C9orf72. L'analisi di metilazione ha mostrato che 4 linee iPSC hanno il promotore del gene C9orf72 espanso metilato e 4 no, mentre la sequenza ripetuta espansa è metilata in tutti i casi, confermando i dati di letteratura riportati nel sangue. La formazione di foci di RNA patologici, definita mediante analisi di FISH, non sembra però mostrare alcuna correlazione con lo stato epigenetico del promotore del gene mutato, nonostante l'analisi di espressione genica indichi che le isoforme V1 e V3, che danno origine all'RNA patologico, siano diminuite nelle cellule iPSC-C9 metilate, come atteso. La determinazione dell'entità dell'espansione della sequenza ripetuta tramite Southern blot ha però mostrato una ampia variabilità tra le diverse linee iPSC mutate, che contengono da 100 a 1300 unità di ripetizione. I nostri dati indicano che la formazione dei foci di RNA dipende in modo direttamente proporzionale dalla dimensione dell'espansione patologica più che dalla presenza del fattore modificatore epigenetico. Il nostro studio rivela che la grande variabilità osservata nei modelli cellulari iPSC-C9, dalla formazione dei foci di RNA alla formazione dei dipeptidi DPR, può dipendere dall'entità dell'espansione e meno dalla metilazione del gene e ciò dovrebbe essere tenuto in considerazione quando questi modelli cellulari si utilizzano per approcci farmacologici che potrebbero, quindi, dare risultati diversi in base alla diversa linea iPSC-C9 utilizzata.

LA MODIFICAZIONE POST-TRADUZIONALE DI SUMOILAZIONE DELLA PROTEINA TDP-43 NELLA SLA

(Progetto SUMALS, finanziato da Agenzia di ricerca AriSLA –Prof.ssa A.Ratti)

La proteina TDP-43, marcatore neuropatologico della SLA familiare e sporadica nonché di alcune forme di FTD, è soggetta a diverse modificazioni post-traduzionali, quali fosforilazione e acetilazione, che ne possono influenzare la stabilità e la propensione all'aggregazione in condizione di malattia. Nel nostro studio abbiamo dimostrato che TDP-43 può essere anche SUMOilata a livello del dominio RRM1 dove è stato predetto il sito di SUMOilazione a livello della lisina K136. Abbiamo dimostrato che la SUMOilazione di TDP-43 è in grado di modificare la sua attività di splicing nei confronti di RNA bersaglio specifici (*POLDIP3*, *CFTR*, *STAG2*, *MAD*, *TNIK*), solo in caso di eventi di exon skipping, ma non di exon inclusion. Poiché la SUMOilazione gioca un importante ruolo nel regolare il trasporto nucleo-citoplasma attraverso la proteina RanGAP1, abbiamo, quindi, modulato positivamente e negativamente la SUMOilazione mediante over-espressione di enzimi del pathway e saggiato l'effetto sulla distribuzione sub-cellulare di TDP-43. I nostri dati indicano che la diminuita SUMOilazione rallenta il trasporto nucleo-citoplasma delle proteine, favorendo la distribuzione citoplasmatica di TDP-43, come atteso, ma questa mislocalizzazione aumenta anche la tendenza di TDP-43 a formare aggregati. L'utilizzo del

mutante TDP-43 SUMO-resistente K136R ha dimostrato che ciò dipende anche dalla modificazione SUMO di TDP-43 e non solo dalla modulazione di RanGAP1. Inoltre abbiamo generato un peptide cellulo-permeabile, che rappresenta un enzima (TS1) in grado di promuovere la de-SUMOilazione, da utilizzare come possibile approccio farmacologico. Il trattamento col peptide TS1 conferma una maggior distribuzione di TDP-43 endogeno nel citoplasma e, nel caso dei costrutti patologici C-ter di TDP-43 (p35 e p25), esso è in grado di favorire una maggiore aggregazione degli stessi nel citoplasma. Questi dati suggeriscono che anche il pathway di SUMOylazione rappresenta un possibile target terapeutico nella SLA al fine di garantire una efficace regolazione del trasporto nucleo-citoplasma di TDP-43 e di prevenire la sua mislocalizzazione nel citoplasma.

NEUROTRACK. STUDIO DELLA DIFFUSIONE E PREDIZIONE DELLA PROGRESSIONE DEL PROCESSO NEURODEGENERATIVO ATTRAVERSO LA STRUTTURA DEL CONNECTOMA CEREBRALE

La nostra UO ha proseguito nel 2019 insieme alle Unità di Neurologia dell'Ospedale San Raffaele, dell'Istituto Neurologico Carlo Besta e dell'Ospedale San Gerardo di Monza uno studio di risonanza magnetica volto alla investigazione delle modalità di progressione delle patologie neurodegenerative, e in particolare della degenerazione frontotemporale e della sclerosi laterale amiotrofica, all'interno del cervello tramite l'analisi del "connectome" cerebrale.

Le malattie neurodegenerative sono caratterizzate dall'accumulo di aggregati proteici insolubili, specifici per ogni malattia, nel sistema nervoso centrale. Una caratteristica comune di tali malattie è che le alterazioni patologiche si accumulano nel tempo seguendo un pattern spaziale stereotipato, che contribuisce all'esordio e alla progressione della sintomatologia clinica. Si ipotizza che la propagazione delle alterazioni patologiche all'interno del sistema nervoso centrale avvenga con un meccanismo "prion-like" basato sulla alterazione, da parte di proteine patologiche, delle proteine vicine e sulla loro trasmissione intercellulare attraverso le connessioni della sostanza bianca. La teoria dei grafi applicata ai dati di risonanza magnetica (RM) fornisce uno strumento in grado di descrivere le interconnessioni di attività e/o struttura del cervello a livello di sistema (definito "connectome" cerebrale). In base a questa teoria, il network cerebrale è concepito come un insieme di nodi, che corrispondono a regioni anatomiche diverse, e di legami, che corrispondono alle connessioni funzionali o strutturali tra le diverse regioni. Le metodiche RM permettono di ottenere informazioni relative alla distanza tra i vari nodi cerebrali e alla forza (strutturale o funzionale) delle connessioni tra nodi. La ricerca nell'ambito dei network cerebrali è potenzialmente in grado di contribuire alla comprensione della patofisiologia delle malattie neurodegenerative e di rivelare i profili di connettività associati a outcome clinici differenti.

L'obiettivo principale dello studio è esplorare i meccanismi di neurodegenerazione associati alle diverse sindromi dello spettro FTLT e alla SLA, nell'ipotesi che il processo neurodegenerativo sia guidato dall'architettura strutturale del "connectome" cerebrale. Più specificamente, lo studio mira a: 1. Caratterizzare la progressione della degenerazione dei network cerebrali nelle forme sporadiche di malattia attraverso lo studio delle variazioni longitudinali a carico del connectome strutturale e funzionale applicando l'analisi dei grafi ai dati di RM di diffusione e funzionale; 2. Utilizzare la struttura del connectome cerebrale all'esordio e modelli matematici per predire la progressione spaziale e temporale del processo neurodegenerativo; 3. Definire i pattern di progressione spaziale e temporale del processo neurodegenerativo specificamente associati a diverse eziologie genetiche di FTD e SLA (*C9orf72*, *GRN*, *MAPT*, *TARDBP*) attraverso lo studio delle variazioni longitudinali a carico del connectome strutturale e funzionale in pazienti affetti da forme genetiche e soggetti asintomatici portatori di tali mutazioni.

La nostra UO partecipa allo studio fornendo 30 pazienti affetti da SLA sporadica, 10 pazienti affetti da FTD sporadica (fenotipi clinici bvFTD, svPPA, nvPPA), 15 pazienti affetti da FTD/SLA genetica (portatori di mutazioni a carico dei geni *C9orf72*, *GRN*, *MAPT*, *TARDBP*) e 10 membri di famiglie portatrici di mutazioni di tali geni. I soggetti vengono sottoposti a visite ogni 6 mesi per un massimo di 5 visite. In ogni visita vengono effettuate, oltre alla valutazione neurologica, una valutazione neuropsicologica estensiva e un esame di RM 3T comprensivo di sequenze pesate in diffusione, RM funzionale a riposo e RM strutturale. Nella visita basale vengono anche effettuati prelievo per analisi genetica e puntura lombare per analisi liquorale con studio dei biomarcatori delle forme di demenza degenerativa.

NEUROIMAGING e RETE NEUROIRCCS ed OTTIMIZZAZIONE/ARMONIZZAZIONE DI SEQUENZE RM IN STUDI MULTICENTRICI

Nel 2019 la U.O. di Neurologia ha preso parte, nell'ambito di una collaborazione con la Neuroradiologia della Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico ed unitamente ad altri 18 IRCCS, al progetto "Rete di Neuroimaging fase II: ottimizzazione e armonizzazione di sequenze RM avanzate e loro applicazione nello studio delle demenze e della disabilità intellettiva in età pediatrica", promosso dal ministero della Salute. Obiettivi dello studio sono l'ottimizzazione, l'armonizzazione e la condivisione di protocolli di imaging avanzato di RM, al fine di costituire un gruppo normativo di soggetti sani (stratificato per età) da confrontare con gruppi di pazienti con decadimento cognitivo e con disabilità intellettiva in età pediatrica in studi pilota. Questo permetterà di identificare parametri quantitativi di valore sia diagnostico che prognostico. Il progetto si prefigge anche di raccogliere i dati di pazienti con la prospettiva di creare dei database che integrino informazioni cliniche e radiologiche (big data). L'auspicio è che l'integrazione dei dati di neuroimaging con quelli clinici e neuropsicologici consenta in futuro di utilizzare il neuroimaging quantitativo per la gestione clinica del singolo soggetto. L'applicazione di tecniche di machine learning potrà inoltre permettere di identificare pattern nascosti all'interno dei dati al fine di aumentare il poter diagnostico.

L'Istituto Auxologico ha partecipato alle riunioni della Rete e WP 1 e prenderà parte al progetto arruolando ed inquadrando dal punto di vista clinico pazienti affetti da demenze e soggetti sani, come controlli, e collaborerà all'ottimizzazione ed armonizzazione delle sequenze di imaging avanzato. In particolare, si è proceduto all'acquisizione di dati sui fantocci per consentire il monitoraggio delle macchine. Si prevede dunque, per ciascuna di queste sequenze ottimizzate ed armonizzate, di condurre uno studio normativo finalizzato alla definizione di range quantitativi di variabilità intra e inter-scanner per fasce d'età. Il protocollo sarà quindi applicato a casi di demenza.

STUDIO IN RM 3 TESLA DI DEPOSITI DI FERRO NELLA CORTECCIA MOTORIA DI PAZIENTI AFFETTI DA PATOLOGIA MOTONEURONALE (SLA)

Nel corso del 2019 è stato concluso il progetto di ricerca corrente dal titolo "Studio dei depositi di ferro nella corteccia motoria di pazienti affetti da MND mediante risonanza magnetica cerebrale 3 Tesla", volto a valutare mediante la sequenza SWI (Susceptibility-Weighted Imaging) in risonanza magnetica ad alto campo (3T), l'entità e la distribuzione di sostanze paramagnetiche nella corteccia motoria nei pazienti affetti da malattia del motoneurone sia rispetto a soggetti sani sia rispetto ad altri pazienti, affetti da altre malattie neurodegenerative. In particolare, scopo dello studio è stato quello di definire un eventuale marcatore radiologico di malattia e la correlazione tra eventuale pattern dei depositi paramagnetici e fenotipo di malattia. Al momento, sono stati arruolati nello studio complessivamente 113 soggetti (pazienti affetti da malattia del motoneurone e soggetti di controllo).

IMPLEMENTAZIONE DELLE FORME PARALLELE DI UNO STRUMENTO DI VALUTAZIONE COGNITIVO-COMPORTAMENTALE NELLA SCLEROSI LATERALE AMIOTROFICA: L'EDINBURGH COGNITIVE AND BEHAVIOURAL ALS SCREEN – ECAS

Nel corso del 2018 è iniziato lo sviluppo delle forme parallele della versione italiana dell'ECAS, al fine di consentire una valutazione ripetuta nel tempo delle funzioni cognitive nei pazienti affetti da SLA e per monitorare accuratamente la progressione degli aspetti cognitivo-comportamentali durante il decorso della malattia. Scopo primario dello studio è quello di sviluppare due forme parallele ed equivalenti della versione italiana dell'ECAS-A (ECAS-B e ECAS-C), al fine di disporre di misure sensibili che consentano un'accurata valutazione, ripetuta nel tempo, degli aspetti cognitivo-comportamentali nei pazienti affetti da SLA durante il decorso di malattia, superando così la problematica relata al possibile 'affetto pratica', e di fornire i relativi dati normativi suddivisi per età e livello d'istruzione.

Nello specifico, questo studio si propone di: (1) validare due forme parallele della versione italiana dell'ECAS-A (ECAS-B e ECAS-C), ossia sviluppare e presentare le due versioni parallele ECAS-B ed ECAS-C; (2) indagare l'equivalenza delle due forme parallele dell'ECAS rispetto alla versione originale ECAS-A; (3) fornire i relativi dati normativi suddivisi per età e livello di istruzione; (4) valutare se le forme parallele dell'ECAS riducono l'effetto pratica durante la somministrazione in serie rispetto alla somministrazione ripetuta dell'ECAS originale; (5) indagare l'affidabilità inter-operatore delle tre versioni dell'ECAS. In seguito alla validazione delle forme parallele italiane dell'ECAS su un campione di soggetti sani, si somministreranno le stesse, unitamente ad altri test cognitivi e scale comportamentali, ad un gruppo di pazienti affetti da SLA. A questi pazienti verrà somministrato l'ECAS-A al momento del reclutamento dello studio, l'ECAS-B a 6 mesi e l'ECAS-C a 12 mesi di follow-up, al fine di descrivere l'andamento nel tempo del profilo cognitivo-comportamentale di questi pazienti. Allo studio di tipo cross-sectional nazionale multicentrico parteciperanno 1200 controlli sani e 210 pazienti affetti da SLA (N=210), reclutati nei vari Centri che partecipano allo studio:

Università degli Studi di Torino (Iazzolino, Calvo, Chiò)

IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta (Consonni, Lauria)

IRCCS Ospedale San Raffaele (Canu, Agosta, Nilo, Filippi)

Centro Clinico Nemo di Milano (Lunetta)

Casa di Cura Privata del Policlinico (Monti, Corbo)

ICS Maugeri (Pain, Mora)

Università della Campania "Luigi Vanvitelli" (Siciliano, Santangelo, Tedeschi)

Università degli Studi di Bari Aldo Moro (Logroscino)

Azienda Ospedaliero Universitaria Maggiore della Carità (Mazzini).

Studio cross-sectional nazionale multicentrico.

Numero controlli sani: 1200 partecipanti.

I soggetti sani reclutati verranno assegnati casualmente alla somministrazione dell'ECAS-A o ECAS-B o ECAS-C. Inizialmente saranno reclutati i soggetti del gruppo 'ECAS-A' e successivamente verranno reclutati i soggetti dei gruppi 'ECAS-B' e 'ECAS-C', in modo tale che le distribuzioni delle variabili genere, età e scolarità (considerate i principali confondenti) siano identiche nei tre gruppi. Verranno effettuati confronti a coppie delle medie dei punteggi dei tre gruppi per testare l'equivalenza delle versioni B e C.

Verranno calcolati i dati normativi di ciascuna versione parallela del questionario (ECAS-B ed ECAS-C), stratificando i soggetti in 4 gruppi: I) soggetti con età inferiore o uguale a 60 anni, II) soggetti con età superiore a 60 anni, III) soggetti con scolarità inferiore a 14 anni e

IV) soggetti con scolarità maggiore o uguale a 14 anni. Di conseguenza, in fase di reclutamento si cercherà di includere lo stesso numero di soggetti per ogni singolo gruppo.

I soggetti a cui verrà somministrata la versione A dell'ECAS verranno randomizzati in 2 gruppi: I) A-A-A, II) A-B-C. Al gruppo A-A-A verrà somministrato l'ECAS-A per tre volte consecutivamente, mentre al gruppo A-B-C verranno somministrate le tre versioni dell'ECAS (A, B e C); per entrambe le condizioni, la somministrazione dell'ECAS (A-A-A ed A-B-C) avverrà durante la stessa seduta; tra ogni somministrazione dell'ECAS, i partecipanti di entrambi i gruppi completeranno un compito distrattore di ricerca visiva della durata di 5 minuti o una fase di riposo di 5 minuti per ridurre ulteriormente la possibilità di affaticamento. Questa analisi servirà per verificare se l' 'effetto pratica' risulterà sensibile ad intervalli di ripetizione brevi.

Inoltre, i soggetti sani a cui è stato somministrato l'ECAS-A e che non sono stati utilizzati per indagare l'effetto pratica verranno utilizzati in una fase longitudinale come gruppo di controllo ed eseguiranno una valutazione con tre visite seriate nel tempo ogni 6 mesi (0 – 6 – 12 mesi), durante le quali verrà effettuata una valutazione neuropsicologica tramite ECAS ed altre scale cognitive e psico-emotive/comportamentali. I pazienti eseguiranno una valutazione con tre visite seriate nel tempo ogni 6 mesi (0 – 6 – 12 mesi), durante le quali verranno effettuate una valutazione clinica, neurologica e, ove possibile, genetica ed una valutazione neuropsicologica tramite ECAS ed altre scale cognitive e psico-emotive/comportamentali.

Lo studio permetterà di ottenere delle misure di indagine cognitivo-comportamentale sensibili ai cambiamenti registrabili lungo il decorso della patologia in esame. Tali misure consentiranno una

valutazione della comparsa e della progressione delle alterazioni cognitivo-comportamentali in pazienti affetti da SLA, al fine di ottenere dati di correlazione genotipo-fenotipo per meglio stadiare le diverse tipologie di coinvolgimento cognitivo-comportamentale e meglio delineare l'andamento nel tempo della patologia.

LO STUDIO DELLA PERSONALITA' NELLA MALATTIA DI PARKINSON

Scopo dello studio è stato quello di indagare la personalità nella Malattia di Parkinson, in associazione con aspetti clinici e psicologici. In particolare, lo studio aveva l'obiettivo di analizzare la presenza e il livello di personalità ossessiva nei pazienti PD, secondo il modello cognitivo-costruttivista. I dati dello studio sono stati oggetto di una recente pubblicazione (Carelli et al., 2019); 51 pazienti sono stati testati e confrontati con 48 soggetti di controllo simili per età e scolarità. Ad ogni soggetto dello studio è stato somministrato il MMSE come strumento di screening cognitivo (MMSE > 24/30). I pazienti sono stati sottoposti a una breve visita neurologica unitamente alla somministrazione delle scale: Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS), Modified Hoehn & Yahr e Schwab & England Staging. Inoltre, per ogni paziente venivano registrate alcune variabili: esordio dei sintomi motori, durata di malattia, terapia farmacologica in atto, lato di esordio ed eventuale dipendenza da nicotina nel corso della vita. È stata somministrata una batteria di test per indagare i tratti di personalità, gli aspetti psico-emotivi, la presenza di sintomi psicopatologici e la qualità di vita: PMQ, STAI-Y, BDI, SCL-90-R e SF-36.

Non sono emerse differenze significative negli stili di personalità tra pazienti e controlli ed è stata osservata una prevalenza di un'organizzazione di significato personale (PMO) di tipo fobico in entrambi i gruppi. Dal punto di vista clinico, i pazienti PD hanno mostrato un grado più elevato di ansia, di depressione, di sintomi ossessivi ed una ridotta qualità di vita rispetto ai controlli.

gruppi Nel gruppo dei pazienti PD sono state trovate correlazioni significative tra PMO e questionari psicologici: in particolare, tutte le sotto-scale PMO correlano con depressione (BDI, SCL-90-DEP), ansia (STAY-Y2, SCL-90-ANX), somatizzazione (SCL-90-SOM),

sintomi ossessivo-compulsivi (SCL-90-OC), ideazione paranoide (SCL-90-PAR) e disturbi psicotici (SCL-90-PSY).

Per quanto riguarda i correlati clinici della personalità nei PD è emersa una correlazione positiva tra il valore della sotto-scala indicante un'organizzazione di significato personale ossessiva (PMO-OP) del questionario PMQ e il valore registrato dalla scala UPDRS totale e del sotto punteggio UPDRS III. La sotto-scala UPDRS II correlava solo con la sotto-scala psicosomatica (PMO-DP). È stata trovata una correlazione negativa tra la scala clinica Schwab & England e i valori PMO-OP e PMO-DP. Al contrario, la scala Modified Hoehn & Yahr non correlava con il valore PMO-OP o con altre sotto-scale dello strumento PMQ.

Per quanto riguarda la qualità di vita, nei pazienti PD è stata trovata una correlazione significativamente negativa tra il punteggio PMO-OP e la parte del test SF-36 di salute generale, mentre non vi era nessuna correlazione nel gruppo di controllo. Non sono state osservate correlazioni significative tra lo stile di personalità e gli altri aspetti clinici, come il lato di esordio e la durata di malattia.

Questo studio ha contribuito a comprendere lo stile di personalità dei pazienti Parkinson secondo il modello teorico clinico ad impronta cognitivo-costruttivista.

SESSUALITA' ED INTIMITA' NELLA SCLEROSI LATERALE AMIOTROFICA

Il tema della sessualità nei pazienti affetti da SLA ha ricevuto scarsa attenzione. Tuttavia, diverse caratteristiche della malattia esercitano un'influenza sulla sessualità e sulle relazioni intime. È stata effettuata una revisione sistematica della letteratura (Poletti et al., 2019) al fine di raccogliere e sintetizzare le informazioni disponibili problemi sulle problematiche presenti circa la sessualità nella SLA. Il lavoro aveva lo scopo di fornire un resoconto aggiornato della sessualità nella SLA ed evidenziare come tale argomento sia stato affrontato nella letteratura disponibile. condotto per tali motivi è stata condotta una revisione sistematica su PubMed, Web of Science, Scopus e PsychInfo (articoli pubblicati da gennaio 1970 a dicembre 2017), con una combinazione dei seguenti termini: "sexual" o "sexuality" o "intimacy" o "marital" e "ALS" o "Amyotrophic Lateral Sclerosis" o "Motor Neuron Disease" o "MND". Un totale di 30 articoli ha soddisfatto i criteri per l'inclusione. Sono stati identificati quattro argomenti principali: l'intimità tra i pazienti e i loro partner; l'attività sessuale nella diade paziente/partner; i disturbi delle funzioni sessuali nella SLA; le possibili variazioni dell'attività sessuale dovute ai cambiamenti cognitivo-comportamentali. È stato visto che la soddisfazione nei rapporti coniugali è un fattore predittivo significativo della QOL sia per i pazienti che per i caregiver. Vi è un'associazione tra la variazione dei livelli di intimità all'interno della diade paziente/partner rispetto allo stato precedente alla malattia. In particolare, il ruolo che assume il partner, l'effetto del trattamento, l'assenza di supporto sociale, la presenza di limitazioni fisiche e comunicative insieme ai sintomi psicosociali dei pazienti sembrano influenzare la presenza e la qualità di intimità tra le coppie. In effetti, la maggior parte dei pazienti ha mostrato perdita di autostima, depressione e ansia. Sono proprio i problemi emotivi (ancor più di quelli fisici) che hanno primariamente effetto sulla sessualità. In particolare, i pazienti descrivono problemi legati al cambiamento del loro corpo e all'immagine corporea. Viene sottolineato come nonostante l'intimità e la sessualità siano considerate come ancora importanti sia nei pazienti che nei partner nella coppia paziente-caregiver vi siano insoddisfazioni globali. Tuttavia, le problematiche legate alla sessualità sono ancora poco trattate per quanto riguarda i pazienti SLA. Si è fornito quindi un possibile approccio per migliorare la sessualità e l'intimità compromesse nei pazienti con SLA e nei loro partner applicabile in qualsiasi clinica multidisciplinare SLA. Sarebbe raccomandabile una consulenza sessuale per le persone affette da SLA, che tenga in considerazione diversi aspetti: fornire informazioni sui fattori fisici (cioè cardiovascolari, respiratori) che influenzano

le prestazioni sessuali; valutare le limitazioni motorie che coinvolgono le attività sessuali; occuparsi degli aspetti psicologici ed interpersonali legati al funzionamento sessuale.

VALUTAZIONE COGNITIVO-COMPORTAMENTALE IN PAZIENTI AFFETTI DA MALATTIA DI PARKINSON E MALATTIA DI HUNTINGTON TRAMITE L'UTILIZZO DELL'EDINBURGH COGNITIVE AND BEHAVIOURAL ALS SCREEN – ECAS

Scopo dello studio è stato quello di indagare le proprietà psicometriche dell'ECAS nei pazienti affetti da Malattia di Parkinson e da Malattia di Huntington sia tramite una valutazione baseline sia nella loro evoluzione longitudinale.

Come ulteriori sotto-obiettivi, in questo ambito si segnalano:

- l'indagine della somministrabilità dell'ECAS nella longitudinalità rispetto a strumenti di valutazione cognitiva standardizzati e tradizionalmente impiegati nell'indagine del funzionamento cognitivo globale e dell'efficienza frontale.
- l'analisi delle correlazioni presenti tra gli indici cognitivi, comportamentali e psicologici rilevati mediante la batteria di test somministrata.

Sono stati oggetto di studio alla baseline (T0) 73 pazienti PD e 38 pazienti HD, le cui prestazioni sono state confrontate con un campione di 49 soggetti sani. I pazienti dello studio tuttora vengono richiamati per i follow-up a 6 mesi (T1) e a 12 mesi (T2). Sono, inoltre, state somministrate ai pazienti PD e HD le scale atte a valutare lo stato clinico e funzionale (UPDRS e UHDRS). Oltre all'ECAS, sono stati somministrati due test cognitivi indaganti l'efficienza frontale (FAB), il funzionamento cognitivo globale (MoCA) e un test di Teoria della Mente (RME), una scala per misurare l'apatia (I-DAS) e due scale psico-emotive volte ad indagare la presenza di sintomatologia depressiva (BDI) e ansiosa (STAI/Y). I risultati alla baseline mostrano una maggiore propensione all'ansia di stato pazienti per entrambi i gruppi di pazienti rispetto ai controlli. Solo i pazienti HD, tuttavia, mostrano livelli significativamente elevati di depressione rispetto ai controlli. Nello specifico, i pazienti HD mostrano più sintomi cognitivi-affettivi rispetto ai controlli, mentre i pazienti PD mostrano più sintomi somato-prestazionali. I pazienti HD rappresentano il gruppo con performances peggiori all'ECAS, MoCA, RME e FAB. Non vi sono differenze significative tra gruppi nei punteggi dell'ECAS Carer Total Behavior e dell'ECAS Carer Symptoms. I pazienti HD mostrano più elevati livelli di apatia rispetto agli altri gruppi. Al punteggio globale dell'ECAS il 29% dei pazienti PD e il 77% dei pazienti HD mostrano punteggi deficitari. Per quanto riguarda le singole performances ai sub-tests dell'ECAS, il 30 % dei pazienti PD presenta una compromissione delle funzioni cognitive, seguita da quella linguistica (27%), mnesica (26%), visuospaziale (22%) e di fluenza verbale (15%). Per quanto concerne i pazienti HD il 68% presenta compromissione del sub-dominio memoria, seguito da linguaggio (66%), fluenza verbale (62%), abilità visuospaziali (60%) e funzioni esecutive (56%). Globalmente, le funzioni non specifiche SLA sono risultate più compromesse di quelle specifiche per i pazienti HD (89% vs 69%).

Inoltre, abbiamo effettuato correlazioni tra il punteggio globale e le sotto-scale dell'ECAS e le variabili psicologiche e comportamentali. Per il gruppo PD è emersa una correlazione negativa tra il punteggio globale e sotto-scale dell'ECAS e la STAI-Y1 (ansia di stato) ed una correlazione moderata con la scala I-DAS. Elevati punteggi dell'ECAS correlano positivamente con FAB, MoCA e RME; per il gruppo HD è emersa una correlazione negativa tra la STAI-Y e il punteggio di fluenza verbale dell'ECAS, il punteggio specifico per le sotto-scale SLA e il punteggio globale. Inoltre, il punteggio totale di BDI è negativamente correlato con le scale/sotto-scale dell'ECAS a livello moderato. Infine, FAB, MoCa e la maggior parte delle scale UHDRS correlano significativamente e positivamente con il punteggio ECAS.

Questo lavoro rappresenta il primo studio italiano sulla somministrazione dell'ECAS ad altre patologie neurodegenerative condizionanti le abilità verbo-motorie.

DISFAGIA NELLA MALATTIA DI HUNTINGTON

La Malattia di Huntington (MH - MIM ID #143100), è una patologia neurodegenerativa a trasmissione autosomica dominante causata dall'espansione di una tripletta CAG nel gene IT-15. La malattia ha una prevalenza di 5-10/100.000 persone ed esordio nella vita adulta (35-40 anni). Le caratteristiche cliniche della MH includono sintomi motori, alterazioni cognitive e disturbi psichiatrici principalmente legati alla disfunzione ed alla perdita dei neuroni dei gangli della base. La MH ha un decorso lentamente progressivo che porta al decesso dopo 15-20 anni, generalmente causato da polmonite *ab ingestis* a seguito della disfunzione della muscolatura bulbare. La disfagia in corso di Malattia di Huntington è ancora poco caratterizzata. Infatti, sebbene la pratica clinica sembrerebbe suggerire che difficoltà deglutitorie si presentino anche in fase relativamente precoce, l'entità e la frequenza in relazione allo stadio di malattia ed alla terapia farmacologica in atto non sono ancora state studiate in maniera accurata.

Lo studio, in collaborazione con il Reparto di Foniatria dell' Ospedale L. Sacco (Prof. A. Schindler) e UOC Genetica Medica – Neurogenetica dell'INN C. Besta (Dott.ssa C. Mariotti) si propone di: 1) valutare l'incidenza del disturbo disfagico in pazienti affetti da Malattia di Huntington a diversi stadi di malattia; 2) identificare quali disordini motori, cognitivi e/o comportamentali correlino con specifiche alterazioni della dinamica deglutitoria; 3) individuazione di interventi riabilitativi e compensativi in MH e valutazione di efficacia tramite re-testing a 6 mesi.

Nel corso del 2017-2019 sono stati studiati più di 60 pazienti affetti da Malattia di Huntington e 30 controlli con valutazioni clinica e strumentali (fibrolaringoscopia) della disfagia.

L' attività del Centro "Dino Ferrari" si è articolata nel 2019 con seguenti Centri:

CENTRO SCLEROSI LATERALE AMIOTROFICA (SLA)

Nell'anno 2019, 320 pazienti affetti da patologia motoneuronale (prevalentemente SLA) sono stati esaminati nel Centro SLA. Alla valutazione clinica sono state accostate diverse indagini ed iniziative terapeutiche:

- ricerca di mutazioni nei geni ad oggi associati a SLA mediante utilizzo di metodologia next-generation sequencing (NGS) con l'utilizzo di un pannello genico da noi disegnato a scopo diagnostico (tecnologia Illumina) comprendente 24 geni causativi di SLA: ALS2, ANG, CHMP2B, DCTN1, FUS, GRN, HNRNPA1, HNRNPA2B1, MAPT, MATR3, NEK1, OPTN, PFN1, SETX, SOD1, SPAST, SPG11, SQSTM1, TARDBP, TBK1, TUBA4A, UBQLN2, VAPB, VCP. La presenza di sequenze ripetute espanse nel gene C9orf72 è stata valutata a parte rispetto al pannello NGS mediante metodiche diverse (Fragment length analysis in fluorescenza e Repet-primed PCR). Il pannello NGS da noi utilizzato comprende anche geni causativi di altre malattie neurodegenerative in stretta sovrapposizione clinico-molecolare tra loro (Demenza frontotemporale, Malattia di Alzheimer, Amiloidosi cerebrale, Malattia di Parkinson), consentendo un più ampio e completo inquadramento diagnostico dei pazienti;
- sviluppo di nuovi parametri neurofisiologici per definizione del numero residuo di Unità Motorie (MUNE) ed analisi neurofisiologica della funzionalità diaframmatici per porre indicazione alla NIV;
- analisi delle caratteristiche nutrizionali con studio della PEG, BMI, etc, in collaborazione con l'Unità di Endocrinologia dell'IRCCS Istituto Auxologico Italiano;

- valutazione neuropsicologica longitudinale dei pazienti affetti da SLA mediante valutazioni seriate nel tempo al fine di evidenziare la presenza e l'evoluitività di specifici deficit cognitivi e/o comportamentali, tramite la somministrazione dello strumento di screening ECAS, messo a punto e validato nella sua versione italiana dal Servizio di Neuropsicologia e psicologia Clinica (Poletti et al., 2016);
- partecipazione a nuovi trial terapeutici per la Sclerosi Laterale Amiotrofica (Masitinib, Tirasemtiv, TUDCA, etc).

Il Centro "Dino Ferrari" ha partecipato a diverse iniziative nazionali ed internazionali per l'ottimizzazione delle cure palliative, la definizione dei costi della malattia, l'educazione dei medici e paramedici in stretto rapporto con l' AISLA (Associazione Italiana Sclerosi Laterale Amiotrofica), la definizione dei criteri di invalidità in collaborazione con la Regione Lombardia. Il Centro "Dino Ferrari" è implicato nel Gruppo di Studio Malattie del Motoneurone della Società Italiana di Neurologia - SIN) e nell' European ALS Consortium (ENCALS) e, più recentemente, nel Northeast ALS Consortium. Il Prof. Silani è membro del Website Management Committee della World Federation of Neurology in rapporto alla ALS/MND.

Nell'ambito dell' ALS European Consortium il Prof. Silani ha tenuto vari Teaching Courses: nell'ambito della nascente EAN il Prof. V. Silani è stato rinominato (2016-) referente per il gruppo Malattie del Motoneurone e Demenza Frontotemporale con il Prof. Albert Ludolph.

CENTRO MALATTIE EXTRAPIRAMIDALI

Nel corso dell'anno 2019, oltre 500 nuovi pazienti circa affetti da diversi disordini extrapiramidali del movimento (Morbo di Parkinson, Paralisi Sopranucleare Progressiva, Atrofia Multisistemica e Degenerazione Cortico-Basale, Corea di Huntington, ect.) sono stati esaminati e trattati presso il "Centro Disturbi del Movimento" che ha eseguito circa 1.500 visite ambulatoriali. È stata creata una stretta collaborazione con l'Associazione Parkinson Milano di cui il Prof. V. Silani fa parte del Comitato Scientifico creando un interscambio scientifico e di pazienti. È stata creata una équipe multispecialistica per la presa in carico del paziente. Il Centro è stato originariamente riconosciuto nell'ambito del NECTAR (Network for European CNS Transplantation and Regeneration) dedicato alle malattie extrapiramidali. Dal 2005 è presente un Centro dedicato alla Malattia di Huntington con creazione di una équipe plurispecialistica formata da neurologi, psichiatri, neuropsicologi, logopedisti e fisioterapisti nell'intento di fornire un approccio interdisciplinare al paziente, garantendo così un supporto ed un riferimento costante nel tempo che è stato esteso anche ai familiari. Nell'ambito della Malattia di Huntington l'assenza di una cura risolutiva della malattia comporta un particolare impatto emotivo nel soggetto che ancora asintomatico decide di testarsi per la mutazione. Ciò impone un continuo supporto psicologico al paziente durante tutto il lungo processo che porta alla diagnosi pre-clinica. Per questo è stato sviluppato ed applicato un protocollo di test predittivo nella Malattia di Huntington secondo le linee guida dell'International Huntington Association e della Federazione Mondiale di Neurologia. Nel corso del 2019 sono state seguite varie famiglie affette da Malattia di Huntington e seguiti cinque pazienti nell'iter del test predittivo. Alla valutazione clinica sono state accostate diverse indagini ed iniziative terapeutiche quali lo studio del sonno nei pazienti affetti da M. di Huntington in collaborazione con il Centro del Sonno (Dott.ssa Carolina Lombardi). Particolare attenzione è oggi dedicata alla cura della disfagia ed accanto alle complicanze polmonari principale causa di morte dei pazienti. Il Dott. Andrea Ciammola ha dato particolare impulso a questa iniziativa unitamente alla équipe multidisciplinare dedicata.

CENTRO per i DISTURBI COGNITIVI e le DEMENZE (CDCD)

Nell'anno 2019 si è registrato un ulteriore aumento del numero di pazienti che si sono rivolti al nostro Centro per una valutazione neuropsicologica. Sono state effettuate oltre 7.000 prestazioni neuropsicologiche e psicodiagnostiche per pazienti degenti in regime di ricovero ordinario o in Day Hospital, nonché 1.000 colloqui psicologici clinici in pazienti affetti da molteplici forme di coinvolgimento cognitivo quali Mild Cognitive Impairment (MCI), Malattia di Alzheimer, Demenza Fronto-Temporale, Demenza con Corpi di Lewy, Parkinson-Demenza, Malattia di Huntington, Paralisi Sopranucleare Progressiva e Degenerazione Cortico-Basale. Oltre all'ambulatorio neuropsicologico convenzionato S.S.N. è operativo un ambulatorio di Valutazione Multidimensionale dei Disturbi Cognitivi condotto congiuntamente da neurologo e neuropsicologo nell'ottica di fornire al paziente affetto da patologia cognitiva un'approccio multidisciplinare che tenga conto delle molteplici problematiche che spesso ne caratterizzano il decorso clinico. Particolare attenzione è stata posta alla valutazione neuropsicologica longitudinale dei pazienti affetti da patologia motoneuronale (SLA, PLS) esaminati nel Centro SLA. Sono stati organizzati diversi eventi formativi ECM in merito all'inquadramento dei disturbi cognitivi, agli aspetti di diagnosi differenziale e gestione dei disturbi psico-emotivi delle malattie neurodegenerative.

Il Centro lavora in sinergia con il Laboratorio di ricerca di neuroscienze e con il Laboratorio analisi. A questo proposito è rilevante la acquisizione, nel 2019, della strumentazione che consente il dosaggio dei biomarcatori liquorali della malattia di Alzheimer mediante chemiluminescenza (CLEIA). Ciò ha consentito l'avvio della misurazione di tali biomarcatori, che sono ormai essenziali nel processo diagnostico della malattia, autonomizzando il Centro che in precedenza dipendeva per questo da collaborazioni esterne e potenziando dal punto di vista sia qualitativo sia quantitativo la capacità diagnostica nell'ambito delle demenze.

Il Centro per i Disturbi Cognitivi e le Demenze (CDCD) afferente alla U.O. di Neurologia dell'IRCCS Istituto Auxologico Italiano, di cui è responsabile il Prof. V. Silani, è riconosciuto dalla Regione Lombardia ed inserito nell'elenco dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS). Nel 2019 è entrato a far parte dell'Istituto Virtuale delle demenze nell'ambito della Rete degli Istituti Virtuali della Rete IRCCS di Neuroscienze e Neuroriabilitazione, che comprende 28 IRCCS. L'Istituto Virtuale delle demenze comprende 16 IRCCS, con un volume complessivo di 2853 ricoveri/anno e 13.915 pazienti ambulatoriali/anno, e ha come principale obiettivo la crescita della qualità clinico-assistenziale e della capacità di ricerca della rete di IRCCS nell'ambito delle demenze.

CENTRO CEFALEE

Il consolidamento dei risultati ottenuti l'anno precedente, l'attivazione di nuove collaborazioni e il potenziamento dei servizi preesistenti sono stati gli elementi che hanno caratterizzato l'attività del Centro Cefalee dell'Auxologico nell'anno 2019. L'approccio spiccatamente multidisciplinare e la possibilità di esecuzione di tutte le prestazioni offerte nella medesima sede, quella dell'Ospedale San Luca, costituiscono i punti di forza del nostro Centro, oltre a rappresentare per il paziente una evidente facilitazione.

La presenza infatti di neurologi specializzati nella diagnosi e cura delle cefalee, nonché di neurofisiologi, neuropsicologi e di altre figure di specialisti quali dietologo, agopunturista e psichiatra, permette di raggiungere una elevata accuratezza diagnostica e assicura al paziente una terapia completa che si avvale di trattamenti farmacologici sistemici e locali, neuromodulatori, psicocomportamentali. L'attività del Centro Cefalee è così articolata :

- 1) VISITE AMBULATORIALI: in diverse sedi dell'Istituto Auxologico, distribuite nell'area milanese e brianzola, sono stati aperti ambulatori di II livello dedicati ai pz

- emicranici (ospedale san luca, clinica san carlo, poliambulatorio procaccini, poliambulatorio di pioltello e di meda), totalizzando circa 1000 visite nell'anno 2019
- 2) **MACROATTIVITA' AMBULATORIALE COMPLESSA:** costituita da trattamenti endovena, della durata di 5 giorni, finalizzati alla disassuefazione dei pazienti con emicrania cronica che hanno assunto in modo incongruo FANS e triptani. Nel 2019 sono stati effettuati 30 trattamenti
 - 3) **TERAPIA CON TOSSINA BOTULINICA:** Un totale di circa 100 pazienti, affetti da emicrania cronica e non responsivi ai comuni farmaci di profilassi, sono stati sottoposti ad infiltrazioni di tossina botulinica nel 2019
 - 4) **TERAPIA PSICOCOMPORTAMENTALE:** tecniche di rilassamento muscolare e di mindfulness si affiancano e supportano efficacemente le tradizionali terapie farmacologiche agendo sui fattori emotivi e comportamentali presenti nei pazienti emicranici. Nel 2019 ,30 pazienti sono stati indirizzati a questi trattamenti
 - 5) **NUOVE TERAPIE ANTIEMICRANICHE:** La recente disponibilità di utilizzo di anticorpi monoclonali anti CGRP ha aperto nuove possibilità terapeutiche nell'ambito delle emicrania. Al Centro Cefalee dell'Auxologico è stata data la possibilità di utilizzare i tre anticorpi erenumab, galcanezumab ed fremanezumab nei pazienti emicranici cronici, per i quali la terapia di profilassi tradizionale era risultata inefficace o causa di importanti effetti collaterali. Sono stati trattati complessivamente 49 pazienti
 - 6) **REGISTRO NAZIONALE EMICRANIE CRONICHE:.** Il Centro Cefalee dell'Auxologico partecipa, insieme ad altri centri italiani, al progetto di costituzione di un registro nazionale della emicrania cronica, iniziativa promossa dall'Istituto Superiore della Sanità, con l'intento di definire con precisione l'epidemiologia, l'impatto sociale e il peso economico dell'emicrania cronica. Allo stato attuale nel nostro centro sono stati registrati 50 pazienti.
 - 7) **AGOPUNTURA-DIETA CHETOGENICA:** La validità scientifica, supportata da numerosi ricerche, di agopuntura e dieta chetogenica , le rende delle utili misure da affiancare ai farmaci. Quindi la presenza, all'interno dell'Istituto Auxologico ,di un medico agopunturista e di una dietologa specializzata nella prescrizione della dieta chetogenica va incontro alla richiesta di un numero sempre maggiore di pazienti che, oltre alle terapie tradizionali, richiedono trattamenti non farmacologici per la cefalea
 - 8) **DIVULGAZIONE :** Sono stati organizzati, nelle diverse sedi dell'Auxologico, incontri divulgativi sul tema delle cefalee, rivolti al pubblico e ai medici di base, con l'intento di rendere noto l'avanzamento nella conoscenza della patogenesi dell'emicrania e di illustrare le nuove possibilità terapeutiche che si sono prospettate recentemente.

CENTRO DI MEDICINA DEL SONNO

È continuata nel corso del 2019 l'attività del Centro di Medicina del Sonno presso l'IRCCS Istituto Auxologico Italiano, Ospedale San Luca, diretto dal Prof. G.F. Parati e dal Prof. V. Silani e coordinato dalla dott.ssa Lombardi.

Nello 2019 sono state eseguite circa oltre 1.000 visite ambulatoriali e polisonnografie portatili, 200 video polisonnografie in laboratorio di medicina del sonno, 60 monitoraggi polisonnografici prolungati (24 ore) e 20 actigrafie.

Le patologie osservate nel centro, vista anche l'ispirazione volutamente multidisciplinare, riguardano ad ampio spettro le malattie cardiovascolari associate a disturbi respiratori durante il sonno (ipertensione arteriosa, scompenso cardiaco, stroke) e tutte le patologie neurologiche coinvolgenti il sonno, comprendendo quindi i disturbi del respiro in corso di sonno (Sindrome delle Apnee Ostruttive nel Sonno – OSAS -, Sindrome delle Apnee Centrali, Ipoventilazione Centrale, alterazioni del pattern ventilatorio nelle patologie neuromuscolari), le ipersonnie (narcolessia, ipersonnie secondarie a malattie neurodegenerative), le parasonnie REM e NREM (disturbo comportamentale della fase REM, sonnambulismo, bruxismo ecc), le epilessie ad estrinsecazione prevalentemente notturna (Nocturnal Frontal Lobe Epilepsy) i disturbi del movimento in corso di sonno (Sindrome delle Gambe senza Risposo) e tutte le forme di insonnia.

Oltre alle attività assistenziali, il Centro cura un'ampia sfera di ricerca.

STROKE UNIT

Nel 2019 l'attività della Stroke Unit a direzione neurologica si è ulteriormente consolidata con ottimizzazione della moderna struttura che offre 6 letti di cui 4 completamente monitorizzati con possibilità di inquadramento del paziente affetto da evento cerebrovascolare acuto. L'attività direttiva della Dott.ssa Laura Adobbati, coordinatrice, e dalla Dott.ssa Barbara Corrà è stata particolarmente efficace, avendo portato gli standard dell'attività della Stroke Unit a livello competitivo sia dal punto di vista medico che organizzativo. Il paziente che accede al Pronto Soccorso in tempo utile viene rapidamente inquadrato e può essere sottoposto nei casi indicati a trombolisi intravenosa, intrarteriosa o posizionamento di stent in rapida sequenza anche per la attiva collaborazione con la U.O. di Neuroradiologia e Neurochirurgia dell' IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore di Milano. Oltre 50 trombolisi intravenose sono state eseguite nel 2019 con successo e senza complicanze. Un numero rilevante di trombolisi intrarteriose sono state completate con successo e senza rilevanti effetti collaterali.

La stretta collaborazione con la UO di Cardiologia diretta dal prof. Gianfranco Parati garantisce un attento monitoraggio cardiologico con una ottimizzazione del monitoraggio clinico per la migliore impostazione terapeutica e lo studio del sonno è stato completato con la collaborazione del Centro del Sonno (dott.ssa Carolina Lombardi) e della consulenza pneumologica (Dott. Paolo Banfi ed équipe).

Una collaborazione è attivamente in corso con l' U.O.di Neurochirurgia della Fondazione Ospedale Maggiore di Milano (Consulente Prof. Marco Locatelli) e con la U.O. di Neuroradiologia del medesimo Istituto anche per lo sviluppo della RM 3 Tesla acquisita dell' Istituzione.

Il percorso riabilitativo del paziente post-ictus è assicurato da due U.O. di Riabilitazione nella Istituzione. Oltre all' allestimento del database, diversi studi sono stati impostati tra i quali quello del sonno e delle apnee ostruttive in stretta relazione con l' evento ischemico e la ricerca genetica nelle forme familiari. In stretta collaborazione con le altre Stroke Unit di Milano e con la Regione Lombardia, la Stroke Unit collabora a diversi studi programmatici regionali offrendo la propria disponibilità e competenza. Particolare attenzione è rivolta alla patologia cerebrovascolare rare per mitocondriopatie, per esempio, che vengono attivamente studiate con esecuzione di biopsie muscolari e ricerca di mutazioni in collaborazione con il Centro "Dino Ferrari" dell' IRCCS Ospedale Maggiore di Milano.

Le potenzialità diagnostiche e d'intervento della Stroke Unit in acuto sono ad ora ottimizzate dalla pronta disponibilità di una RM 1.5 e RM 3 Tesla e da un'attività di ricerca volta

ulteriormente ad ottimizzare la diagnosi precoce dell' evento ischemico nella prospettiva della più adeguata terapia.

PRODUZIONE SCIENTIFICA ANNO 2019

Poletti B., Carelli L., Solca F., Pezzati R., Faini A., Ticozzi N., Mitsumoto H., Silani V.

Sexuality and intimacy in ALS: systematic literature review and future perspectives.

J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2019. doi: 10.1136/jnnp-2018-319684;

Verde F., Steinacker P, Jochen H Weishaupt, Jan Kassubek , Patrick Oeckl , Steffen Halbgebauer , Hayretin Tumanı , Christine A F von Arnim , Johannes Dorst , Emily Feneberg , Benjamin Mayer, Hans-Peter Müller, Martin Gorges , Angela Rosenbohm , Alexander E Volk , Vincenzo Silani , Albert C Ludolph , Markus Otto.

J. Neurol Neurosurg Psychiatry 2019, 90 (2), 157-164. doi: 10.1136/jnnp-2018-318704

Pattee G.L., Plowman E.K., Garand K.L.F., Costello J., Brooks B.R., Berry J.D., Smith R.A., Atassi N., Chapin J.L., Yunusova Y., McIllduff C.E., Young E., Macklin E.A., Locatelli E.R., Silani V., Heitzman D., Wymer J., Goutman S.A., Gelinas D.F., Perry B., Nalipinski P., Stipancic K., O'Brien M., Sullivan S.L., Piro e.P., Gargiulo G., J.R. & Contributing Members of the NEALS Bulbar Subcommittee.

Provisional best practices guidelines for the evaluation of bulbar dysfunction in ALS.

Muscle & Nerve, 2019 Jan 8. doi: 10.1002/mus.26408;

van den Berg L.H., Sorensen E., Gronseth G., Macklin E.A., PhD, Andrews J., Baloh R.H., Benatar M., Berry J.D., Chio A., Corcia P., MD, Genge A., Gubitz A.K., Lomen-Hoerth C., McDermott C.J., Piro E.P., Rosenfeld J., Silani V., Turner M.R., Markus Weber M., Brooks B.R., MD, Miller R.G., Mitsumoto H., for Airlie House ALS Clinical Trials Guidelines Group.

Revised Airlie House Consensus Guidelines for Design and Implementation of ALS Clinical Trials. Neurology 2019;92:e1-e14. doi:10.1212/WNL.0000000000;

Casana R., Malloggi C. Tolva V.S., Odero A. Jr., Bulbulia R., Halliday A., Silani V., Parati G. *Three-year outcomes after carotid artery revascularization: Gender-related differences.*

Vascular 2019 Mar 12;1708538119836312. doi: 10.1177/1708538119836312;

Verde F., Tiloca C., Morelli C., Doretta A., Poletti B., Maderna L., Messina S., Gentilini D., Fogh I., Ratti A., Silani V., Ticozzi N.

PON1 is a disease modifier gene in amyotrophic laterale sclerosis: association of the Q192R polymorphism with bulbar onset and reduced survival.

Neurol Sci 2019. doi.org/10.1007/s10072-019-03834-2;

Trojsi F., Siciliano M., Ferniano C., Santangelo G., Lunetta C., Calvo A., Moglia C., Marinou K., Ticozzi N., Ferro C., Scialò C., Sorarù G., Conte A., Falzone Y.M., Tortelli R., Russo M., Sansone V.A., Chiò A., Mora G., Silani V., Volanti P., Caponnetto C., Querin G., Sabatelli M., Riva N., Logroscino G., Messina S., Fasano A., Monsurrò M.R. Tedeschi G., Mandrioni J.

Comparative analysis of C9orf72 and sporadic disease in a large multicenter ALS population: the effect of male sex on survival of C9orf72 positive patients.

Front Neurosci 2019 May 17;13:485. doi: 10.3389/fnins.2019.00485. eCollection 2019;

Mandrioli J., Zucchi E., Gessani A., Bonetto V., Carra S., Cereda C., Ceroni M., Chiò A., Crippa V., D'Amico R., Monsurrò M.R., Riva N. Sabatelli M., Silani V., Simone I.L., Sorarù G., Poletti P.; co-ALS investigators group.

Proteostasis and ALS: protocol for a phase II, randomized, double blind, placebo controlled, multicenter clinical trial for Colchicine in ALS (Co-ALS).

BMJ Open 2019 May 30;9(5):e028486. doi: 10.1136/bmjopen-2018-028486;

Verde F., Silani V., Otto M.

Neurochemical biomarkers in amyotrophic lateral sclerosis.

Curr Opinion Neurol 2019Oct;32(5):747-757. doi: 10.1097/ WCO.0000000000000744 ;

Gumina V., Colombrita C., Fallini C., Bossolasco P., Maraschi A.M., Landers J.E., Silani V., Ratti A.

TDP-43 and NOVA-1 RNA-binding proteins as competitive splicing regulators of the schizophrenia-associated TNIK gene.

Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech. 2019 Aug 2;1862(9):194413. doi: 10.1016/j.bbagr.2019.194413;

Casana R, Tolva VS, Odero A Jr, Malloggi C, Silani V, Parati G.

Carotid artery stenting is safe and effective for symptomatic patients with acute coronary syndrome.

Catheter Cardiovasc Interv. 2019 Aug 13. doi: 10.1002/ccd.28445. PMID: 31410994;

Carelli L., Solca F., Torre S., Pasquini J., Morelli C., Pezzati R., Mancini F., Ciammola A., Silani V., Poletti B.

A novel approach for investigating Parkinson's Disease personality and its association with clinical and psychological aspects.

Front Psychol. Oct 11;10:2265. doi: 10.3389/fpsyg.2019.02265. eCollection 2019. PMID: 31681080;

Ciammola A., Sangalli D., Sassone J., Poletti B., Carelli L., Banfi P.I., Pappacoda G., Ceccherini I., Grossi A., Maderna L., Pingue M., Girotti F., Silani V.

A novel mutation of GFAP causing adult-onset Alexander disease.

Frontiers in Neurology, 10, 1124, 2019. doi: 10.3389/fneur.2019.01124;

Gumina V., Onesto E., Colombrita C., Maraschi A.M., Silani V., Ratti A.

Inter-Species differences in regulation of the progranulin-sortilin axis in TDP-43 cell models of neurodegeneration.

Int J Mol Sci, 2019, 20, 5866. doi: 10.3390/ijms20235866. PMID 31766750;

Morelli C., Tiloca C., Colombrita C., Zambon A., Soranna D., Lafronza A., Solca F., Carelli L.¹, Poletti B., Doretto A., Verde F.¹, Maderna L., Ticozzi N., Ratti A., Silani V.

CSF Angiogenin levels in Amyotrophic Lateral Sclerosis-Frontotemporal dementia spectrum.

Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration, doi: 10.1080/21678421.2019.1704016;

Turner M.R., Barohn R.J., Corcia P., Fink J.K., Harms M.B., Kiernan M. C., Ravits J., Silani V., Simmons Z., Statland J.², van den Berg L.H.,

Delegates of the 2nd International PLS Conference, Mitsumoto H. Primary lateral sclerosis: consensus diagnostic criteria.

J Neurol Neurosurg Psychiatry, doi: 10.1136/JNNP-2019-322541;

Contarino VE, Conte G, Morelli C, Trogu F, Scola E, Calloni SF, Sanmiguel Serpa LC, Liu C, Silani V, Triulzi F..

Toward a marker of upper motor neuron impairment in amyotrophic lateral sclerosis: a fully automatic investigation of the magnetic susceptibility in the precentral cortex.

Eur J Radiol, 2020 Jan 11;124:108815. doi: 10.1016/j.ejrad.2020.108815;

Bardelli D., Sassone F., Colombrita C., Volpe C., Gumina V., Peverelli S., Catusi I., Ratti A., Silani V., Bossolasco P.

Reprogramming fibroblasts and peripheral blood cells from a C9ORF72 patient: a proof-of-principle study.

J Cell Mol Med, in press, 2019;

Ratti A., Gumina V., Lenzi P., Bossolasco P., Fulceri F., Volpe C., Bardelli D., Pregnolato F., Maraschi A., Fornai F., Silani V., Colombrita C.

Induction of chronic stress reveals an interplay of stress granules and TDP-43 pathological aggregates in human ALS fibroblasts and iPSC-neurons.

Under revision, 2019;

Poletti B., Carelli L., Lunetta C., Silani V.

Advance care planning and mental capacity in ALS: a current challenge for an unsolved matter.

Under final revision, 2019;

TOTALE I.F. : 63,995

INIZIATIVE DIDATTICHE ISTITUZIONALI

Charcotiadi : i giovedì dell'aggiornamento

- Clinico
- Laboratorio di Neuroscienze
- Clinico/Laboratorio
- Lezioni magistrali di diversi ospiti

I mercoledì dell'aggiornamento del Laboratorio di Neuroscienze

- Discussione dei dati di laboratorio relativi ai differenti gruppi di ricerca

I mercoledì del gruppo di lavoro SLA/FTD

- Aggiornamenti sulle Linee Guida
- Novità cliniche e terapeutiche
- Sperimentazioni nazionali ed internazionali

Partecipazione Editorial Board Internazionali

- Amyotrophic Lateral Sclerosis and other Neuron Disorders
- European Neurology
- American Journal of Neurodegenerative Diseases
- Annals of Transplantation Research

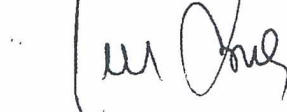
Stage all' estero di ricercatori:

- Dott.ssa Isabella Fogh - Department of Basic and Clinical Neuroscience, Institute of Psychiatry, Psychology & Neuroscience King's College London, UK

Ricercatori stabilmente all' estero

- Dott. Niccolò Mencacci – Feinberg School of Medicine - Northwestern University - Chicago, USA
- Dott.ssa Claudia Fallini – UMass Medical School, Worcester, Massachusetts, USA

« Centro Dino Ferrari »
Il Coordinatore Scientifico
Prof. Nereo Bresolin



ELENCO PUBBLICAZIONI 2019

Brogna C, Coratti G, Pane M, Ricotti V, Messina S, D'Amico A, Bruno C, Vita G, Berardinelli A, Mazzone E, Magri F, Ricci F, Mongini T, Battini R, Bello L, Pegoraro E, Baranello G, Previtali SC, Politano L, Comi GP, Sansone VA, Donati A, Bertini E, Muntoni F, Goemans N, Mercuri E; con la partecipazione del gruppo internazionale DMD.

Long-term natural history data in Duchenne muscular dystrophy ambulant patients with mutations amenable to skip exons 44, 45, 51 and 53.

PLoS One. 2019 Jun 31;14(7):e0220714. doi: 10.1371/journal.pone.0218683. eCollection 2019.

Peretto G, Di Resta C, Perversi J, Forleo C, Maggi L, Politano L, Barison A, Previtali SC, Carboni N, Bruno F, Pegoraro E, D'Amico A, Rodolico C, Magri F, Manzi RC, Palladino A, Isola F, Gigli L, Mongini TE, Semplicini C, Calore C, Ricci G, Comi GP, Ruggiero L, Bertini E, Bonomo P, Nigro G, Resta N, Emdin M, Favale S, Siciliano G, Santoro L, Sinagra G, Limongelli G, Ambrosi A, Ferrari M, Golzio PG, Bella PD, Benedetti S, Sala S; Italian Network for Laminopathies (NIL).

Cardiac and Neuromuscular Features of Patients with LMNA-Related Cardiomyopathy.

Ann Intern Med. 2019 Sep 3. doi: 10.7326/M18-2768.

Daniela Piga, Sabrina Salani, Francesca Magri, Roberta Brusa, Eleonora Mauri, Giacomo P. Comi, Nereo Bresolin, Stefania Corti.

Human induced pluripotent stem cell models for the study and treatment of Duchenne and Becker muscular dystrophies

Ther Adv Neurol Disord. 2019 May 3;12:1756286419833478.

V Galimberti, R Tironi, A Lerario, M Scali, R Del Bo, C Rodolico, T Brizzi, S Gibertini, L Maggi, M Mora, A Toscano, G P Comi, M Sciacco, M Moggio, L Peverelli

Value of Insoluble PABPN1 Accumulation in the Diagnosis of Oculopharyngeal Muscular Dystrophy

Eur J Neurol, 2019 Nov 26 [Online ahead of print] PMID: 31769567 IF: 4.38

Ronchi D, Liu C, Caporali L, Piga D, Li H, Tagliavini F, Valentino ML, Ferrò MT, Bini P, Zheng L, Carelli V, Shen B, Comi GP.

Novel mutations in DNA2 associated with myopathy and mtDNA instability.

Ann Clin Transl Neurol. 2019 Sep;6(9):1893-1899. doi: 10.1002/acn3.50888. Epub 2019 Sep 2.

Filosto M, Cotti Piccinelli S, Lamperti C, Mongini T, Servidei S, Musumeci O, Tonin P, Santorelli FM, Simoncini C, Primiano G, Vercelli L, Rubegni A, Galvagni A, Moggio M, Comi GP, Carelli V, Toscano A, Padovani A, Siciliano G, Mancuso M.

Muscle pain in mitochondrial diseases: a picture from the Italian network.

J Neurol. 2019 Apr;266(4):953-959. doi: 10.1007/s00415-019-09219-x.

Musumeci O, Barca E, Lamperti C, Servidei S, Comi GP, Moggio M, Mongini T, Siciliano G, Filosto M, Pegoraro E, Primiano G, Ronchi D, Vercelli L, Orsucci D, Bello L, Zeviani M, Mancuso M, Toscano A.

Lipomatosis Incidence and Characteristics in an Italian Cohort of Mitochondrial Patients.

Front Neurol. 2019 Feb 27;10:160. doi: 10.3389/fneur.2019.00160.

Delia Gagliardi, Eleonora Mauri, Francesca Magri, Daniele Velardo, Megi Meneri, Elena Abati, Roberta Brusa, Irene Faravelli, Daniela Piga, Dario Ronchi, Fabio Triulzi, Lorenzo Peverelli, Monica Sciacco, Nereo Bresolin, Giacomo Pietro Comi, Stefania Corti, Alessandra Govoni.

Can Intestinal Pseudo-Obstruction Drive Recurrent Stroke-Like Episodes in Late-Onset MELAS Syndrome? A Case Report and Review of the Literature.

Front Neurol. 2019 Jan 31;10:38. doi: 10.3389/fneur.2019.00038.

Bellotti AS, Andreoli L, Ronchi D, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

Molecular Approaches for the Treatment of Pompe Disease.

Mol Neurobiol. 2019 Nov 12. doi:10.1007/s12035-019-01820-5.

Sottnik JL, Mallareddy V, Chauca-Diaz A, Chauca-Diaz A, Ritterson Lew C, Owens C, Dancik GM, Pagliarini S, Lucchiari S, Moggio M, Ripolone M, Comi GP, Frierson HF, Clouthier D, Theodorescu D.

Elucidating the role of Agl in bladder carcinogenesis by generation and characterization of genetically engineered mice.

Carcinogenesis. 2019;40(1):194–201. doi:10.1093/carcin/bgy139. Impact factor: 4.004

Brusa R, Faravelli I, Gagliardi D, Magri F, Cogiamanian F, Saccomanno D, Cinnante C, Mauri E, Abati E, Bresolin N, Corti S, Comi GP.

Ophthalmoplegia Due to Miller Fisher Syndrome in a Patient With Myasthenia Gravis.

Front Neurol. 2019 Aug 13;10:823. doi: 10.3389/fneur.2019.00823. eCollection 2019.

Gagliardi D, Meneri M, Saccomanno D, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

Diagnostic and Prognostic Role of Blood and Cerebrospinal Fluid and Blood Neurofilaments in Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Review of the Literature.

Int J Mol Sci. 2019 Aug 25;20(17). pii: E4152. doi: 10.3390/ijms20174152.

Bitetto G, Ronchi D, Bonato S, Pittaro A, Compagnoni GM, Bordoni A, Salani S, Frattini E, Lopez G, Cribiù FM, Corti S, Comi GP, Bresolin N, Di Fonzo A.

Loss of the nucleoporin Aladin in central nervous system and fibroblasts of Allgrove Syndrome.

Hum Mol Genet. 2019 Oct 10. pii: ddz236. doi: 10.1093/hmg/ddz236.

Monfrini E, Straniero L, Bonato S, Monzio Compagnoni G, Bordoni A, Dilella R, Rinchetti P, Silipigni R, Ronchi D, Corti S, Comi GP, Bresolin N, Duga S, Di Fonzo A.

Neurofascin (NFASC) gene mutation causes autosomal recessive ataxia with demyelinating neuropathy.

Parkinsonism Relat Disord. 2019 Jun;63:66-72. doi:10.1016/j.parkreldis.2019.02.045.

Abati E, Gagliardi D, Velardo D, Meneri M, Conte G, Cinnante C, Bresolin N, Comi G, Corti S. *Herpes Simplex virus type 2 myeloradiculitis with a pure motor presentation in a liver transplant recipient.*

Transpl Infect Dis. 2019 Dec 23:e13236. doi: 10.1111/tid.13236. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 31868290.

Saladini M, Nizzardo M, Govoni A, Taiana M, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

Spinal muscular atrophy with respiratory distress type 1: Clinical phenotypes, molecular pathogenesis and therapeutic insights.

J Cell Mol Med. 2019 Dec 4. doi: 10.1111/jcmm.14874. [Epub ahead of print]. PubMed PMID: 31802621.

Costamagna G, Andreoli L, Corti S, Faravelli I.

iPSCs-Based Neural 3D Systems: A Multidimensional Approach for Disease Modeling and Drug Discovery.

Cells. 2019 Nov 14;8(11). pii: E1438. doi: 10.3390/cells8111438. Review. PubMed PMID: 31739555; PubMed Central PMCID: PMC6912470.

Forotti G, Nizzardo M, Bucchia M, Ramirez A, Trombetta E, Gatti S, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

CSF transplantation of a specific iPSC-derived neural stem cell subpopulation ameliorates the disease phenotype in a mouse model of spinal muscular atrophy with respiratory distress type 1.

Exp Neurol. 2019 Nov;321:113041. doi: 10.1016/j.expneurol.2019.113041. Epub 2019 Aug 21. PubMed PMID: 31445043.

Abati E, Bresolin N, Comi G, Corti S.

Advances, Challenges, and Perspectives in Translational Stem Cell Therapy for Amyotrophic Lateral Sclerosis.

Mol Neurobiol. 2019 Oct;56(10):6703-6715. doi: 10.1007/s12035-019-1554-x. Epub 2019 Mar 26. PubMed PMID: 30911936.

Barbullushi K, Abati E, Rizzo F, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

Disease Modeling and Therapeutic Strategies in CMT2A: State of the Art.

Mol Neurobiol. 2019 Sep;56(9):6460-6471. doi: 10.1007/s12035-019-1533-2. Epub 2019 Mar 4. PubMed PMID: 30830587.

Brusa R, Faravelli I, Gagliardi D, Magri F, Cogiamanian F, Saccomanno D, Cinnante C, Mauri E, Abati E, Bresolin N, Corti S, Comi GP.

Ophthalmoplegia Due to Miller Fisher Syndrome in a Patient With Myasthenia Gravis. Front Neurol. 2019 Aug 13;10:823. doi: 10.3389/fneur.2019.00823. eCollection 2019. PubMed PMID: 31456730; PubMed Central PMCID: PMC6700242.

Abati E, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

Preconditioning and Cellular Engineering to Increase the Survival of Transplanted Neural Stem Cells for Motor Neuron Disease Therapy.

Mol Neurobiol. 2019 May;56(5):3356-3367. doi: 10.1007/s12035-018-1305-4. Epub 2018 Aug 17. PubMed PMID: 30120734.

Perego MGL, Taiana M, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

R-Loops in Motor Neuron Diseases.

Mol Neurobiol. 2019 Apr;56(4):2579-2589. doi: 10.1007/s12035-018-1246-y. Epub 2018 Jul 25. PubMed PMID: 30047099.

Gagliardi D, Comi GP, Bresolin N, Corti S.

MicroRNAs as regulators of cell death mechanisms in amyotrophic lateral sclerosis.

J Cell Mol Med. 2019 Mar;23(3):1647-1656. doi: 10.1111/jcmm.13976. Epub 2019 Jan 4. PubMed PMID: 30614179; PubMed Central PMCID: PMC6378226.

Rizzo F, Nizzardo M, Vashisht S, Molteni E, Melzi V, Taiana M, Salani S, Santonicola P, Di Schiavi E, Bucchia M, Bordoni A, Faravelli I, Bresolin N, Comi GP, Pozzoli U, Corti S.

Key role of SMN/SYNERG1 and RNA-Motif 7 in spinal muscular atrophy: RNA-Seq and motif analysis of human motor neurons.

Brain. 2019 Feb 1;142(2):276-294. doi: 10.1093/brain/awy330. PubMed PMID: 30649277; PubMed Central PMCID: PMC6351774.

Delvecchio G, Rossetti MG, Caletti E, Arighi A, Galimberti D, Basilico P, Mercurio M, Paoli RA, Cinnante C, Triulzi F, Altamura AC, Scarpini E, Brambilla P.

The Neuroanatomy of Somatoform Disorders: A Magnetic Resonance Imaging Study.

Psychosomatics 2019;60(3):278-88.

Pietroboni AM, Caprioli M, Carandini T, Scarioni M, Ghezzi L, Arighi A, Cioffi S, Cinnante C, Fenoglio C, Oldoni E, De Riz MA, Basilico P, Fumagalli GG, Colombi A, Giulietti G, Serra L, Triulzi F, Bozzali M, Scarpini E, Galimberti D.

CSF β -amyloid predicts prognosis in patients with multiple sclerosis.

Multiple Sclerosis 2019; 25(9):1223-31.

Pietroboni AM, Carandini T, Colombi A, Mercurio M, Ghezzi L, Giulietti G, Scarioni M, Arighi A, Fenoglio C, De Riz MA, Fumagalli GG, Basilico P, Serpente M, Bozzali M, Scarpini E, Galimberti D, Marotta G.

Amyloid PET as a marker of normal-appearing white matter early damage in multiple sclerosis: correlation with CSF β -amyloid levels and brain volumes.

European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging 2019;46:280–7.

IF=7,182

Cury C, Durrleman S, Cash DM, Lorenzi M, Nicholas JM, Bocchetta M, van Swieten JC, Borroni B, Galimberti D, Masellis M, Tartaglia MC, Rowe JB, Graff C, Tagliavini F, Frisoni GB, Laforce R Jr, Finger E, de Mendonça A, Sorbi S, Ourselin S, Rohrer JD, Modat M;

Genetic FTD Initiative, GENFI. Spatiotemporal analysis for detection of pre-symptomatic shape changes in neurodegenerative diseases: Initial application to the GENFI cohort.

Neuroimage 2019;88:282-90.

Swarup V, Hinz FI, Rexach JE, Noguchi KI, Toyoshiba H, Oda A, Hirai K, Sarkar A, Seyfried NT, Cheng C, Haggarty SJ; International Frontotemporal Dementia Genomics Consortium (including Galimberti D), Grossman M, Van Deerlin VM, Trojanowski JQ, Lah JJ, Levey AI, Kondou S, Geschwind DH. Identification of evolutionarily conserved gene networks mediating neurodegenerative dementia. *Nature Medicine* 2019;25(1):152-64.

Rittman T, Borchert R, Jones S, van Swieten J, Borroni B, Galimberti D, Masellis M, Tartaglia MC, Graff C, Tagliavini F, Frisoni GB, Laforce R Jr, Finger E, Mendonça A, Sorbi S, Rohrer JD, Rowe JB;

Genetic Frontotemporal Dementia Initiative (GENFI). Functional network resilience to pathology in presymptomatic genetic frontotemporal dementia.

Neurobiology of Aging 2019;77:169-77. IF=4,398

Kunkle BW, Grenier-Boley B, Sims R, Bis JC, Damotte V, Naj AC, Boland A, Vronskaya M, van der Lee SJ, Amlie-Wolf A, Bellenguez C, Frizatti A, Chouraki V, Martin ER, Sleegers K, Badarinarayan N, Jakobsdottir J, Hamilton-Nelson KL, Moreno-Grau S, Olsos R, Raybould R, Chen Y, Kuzma AB, Hiltunen M, Morgan T, Ahmad S, Vardarajan BN, Epelbaum J, Hoffmann P, Boada M, Beecham GW, Garnier JG, Harold D, Fitzpatrick AL, Valladares O, Moutet ML, Gerrish A, Smith AV, Qu L, Bacq D, Denning N, Jian X, Zhao Y, Del Zompo M, Fox NC, Choi SH, Mateo I, Hughes JT, Adams HH, Malamon J, Sanchez-Garcia F, Patel Y, Brody JA, Dombroski BA, Naranjo MCD, Daniilidou M, Eiriksdottir G, Mukherjee S, Wallon D, Uphill J, Aspelund T, Cantwell LB, Garzia F, Galimberti D, Hofer E, Butkiewicz M, Fin B, Scarpini E, Sarnowski C, Bush WS, Meslage S, Kornhuber J, White CC, Song Y, Barber RC, Engelborghs S, Sordon S, Vojnovic D, Adams PM, Vandenberghe R, Mayhaus M, Cupples LA, Albert MS, De Deyn PP, Gu W, Himali JJ, Beekly D, Squassina A,

Hartmann AM, Orellana A, Blacker D, Rodriguez-Rodriguez E, Lovestone S, Garcia ME, Doody RS, Munoz-Fernandez C, Sussams R, Lin H, Fairchild TJ, Benito YA, Holmes C, Karamujić-Čomić H, Frosch MP, Thonberg H, Maier W, Roschupkin G, Ghetti B, Giedraitis V, Kawalia A, Li S, Huebinger RM, Kilander L, Moebus S, Hernández I, Kamboh MI, Brundin R, Turton J, Yang Q, Katz MJ, Concari L, Lord J, Beiser AS, Keene CD, Helisalmi S, Kloszewska I, Kukull WA, Koivisto AM, Lynch A, Tarraga L, Larson EB, Haapasalo A, Lawlor B, Mosley TH, Lipton RB, Solfrizzi V, Gill M, Longstreth WT Jr, Montine TJ, Frisardi V, Diez-Fairen M, Rivadeneira F, Petersen RC, Deramecourt V, Alvarez I, Salani F, Ciaramella A, Boerwinkle E, Reiman EM, Fievet N, Rotter JJ, Reisch JS, Hanon O, Cupidi C, Andre Uitterlinden AG, Royall DR, Dufouil C, Maletta RG, de Rojas I, Sano M, Brice A, Cecchetti R, George-Hyslop PS, Ritchie K, Tsolaki M, Tsuang DW, Dubois B, Craig D, Wu CK, Soininen H, Avramidou D, Albin RL, Fratiglioni L, Germanou A, Apostolova LG, Keller L, Koutroumani M, Arnold SE, Panza F, Gkatzima O, Asthana S, Hannequin D, Whitehead P, Atwood CS, Caffarra P, Hampel H, Quintela I, Carracedo Á, Lannfelt L, Rubinsztein DC, Barnes LL, Pasquier F, Frölich L, Barral S, McGuinness B, Beach TG, Johnston JA, Becker JT, Passmore P, Bigio EH, Schott JM, Bird TD, Warren JD, Boeve BF, Lupton MK, Bowen JD, Proitsi P, Boxer A, Powell JF, Burke JR, Kauwe JSK, Burns JM, Mancuso M, Buxbaum JD, Bonuccelli U, Cairns NJ, McQuillin A, Cao C, Livingston G, Carlson CS, Bass NJ, Carlsson CM, Hardy J, Carney RM, Bras J, Carrasquillo MM, Guerreiro R, Allen M, Chui HC, Fisher E, Masullo C, Crocco EA, DeCarli C, Bisceglia G, Dick M, Ma L, Duara R, Graff-Radford NR, Evans DA, Hodges A, Faber KM, Scherer M, Fallon KB, Riemenschneider M, Fardo DW, Heun R, Farlow MR, Kölsch H, Ferris S, Leber M, Foroud TM, Heuser I, Galasko DR, Giegling I, Gearing M, Hüll M, Geschwind DH, Gilbert JR, Morris J, Green RC, Mayo K, Growdon JH, Feulner T, Hamilton RL, Harrell LE, Drichel D, Honig LS, Cushion TD, Huentelman MJ, Hollingworth P, Hulette CM, Hyman BT, Marshall R, Jarvik GP, Meggy A, Abner E, Menzies GE, Jin LW, Leonenko G, Real LM, Jun GR, Baldwin CT, Grozeva D, Karydas A, Russo G, Kaye JA, Kim R, Jessen F, Kowall NW, Vellas B, Kramer JH, Vardy E, LaFerla FM, Jöckel KH, Lah JJ, Dichgans M, Leverenz JB, Mann D, Levey AI, Pickering-Brown S, Lieberman AP, Klopp N, Lunetta KL, Wichmann HE, Lyketsos CG, Morgan K, Marson DC, Brown K, Martiniuk F, Medway C, Mash DC, Nöthen MM, Masliah E, Hooper NM, McCormick WC, Daniele A, McCurry SM, Bayer A, McDavid AN, Gallacher J, McKee AC, van den Bussche H, Mesulam M, Brayne C, Miller BL, Riedel-Heller S, Miller CA, Miller JW, Al-Chalabi A, Morris JC, Shaw CE, Myers AJ, Wiltfang J, O'Bryant S, Olichney JM, Alvarez V, Parisi JE, Singleton AB, Paulson HL, Collinge J, Perry WR, Mead S, Peskind E, Cribbs DH, Rossor M, Pierce A, Ryan NS, Poon WW, Nacmias B, Potter H, Sorbi S, Quinn JF, Sacchinelli E, Raj A, Spalletta G, Raskind M, Caltagirone C, Bossù P, Orfei MD, Reisberg B, Clarke R, Reitz C, Smith AD, Ringman JM, Warden D, Roberson ED, Wilcock G, Rogaeva E, Bruni AC, Rosen HJ, Gallo M, Rosenberg RN, Ben-Shlomo Y, Sager MA, Mecocci P, Saykin AJ, Pastor P, Cuccaro ML, Vance JM, Schneider JA, Schneider LS, Slifer S, Seeley WW, Smith AG, Sonnen JA, Spina S, Stern RA, Swerdlow RH, Tang M, Tanzi RE, Trojanowski JQ, Troncoso JC, Van Deerlin VM, Van Eldik LJ, Vinters HV, Vonsattel JP, Weintraub S, Welsh-Bohmer KA, Wilhelmsen KC, Williamson J, Wingo TS, Woltjer RL, Wright CB, Yu CE, Yu L, Saba Y; Alzheimer Disease Genetics Consortium (ADGC); European Alzheimer's Disease Initiative (EADI); Cohorts for Heart and Aging Research in Genomic Epidemiology Consortium (CHARGE); Genetic and Environmental Risk in AD/Defining Genetic, Polygenic and Environmental Risk for Alzheimer's Disease Consortium (GERAD/PERADES); Pilotto A, Bullido MJ, Peters O, Crane PK, Bennett D, Bosco P, Coto E, Boccardi V, De Jager PL, Lleo A, Warner N, Lopez OL, Ingelsson M, Deloukas P, Cruchaga C, Graff C, Gwilliam R, Fornage M, Goate AM, Sanchez-Juan P, Kehoe PG, Amin N, Ertekin-Taner N, Berr C, Debette S, Love S, Launer LJ, Younkin SG, Dartigues JF, Corcoran C, Ikram MA, Dickson DW, Nicolas G, Campion D,

Tschanz J, Schmidt H, Hakonarson H, Clarimon J, Munger R, Schmidt R, Farrer LA, Van Broeckhoven C, C O'Donovan M, DeStefano AL, Jones L, Haines JL, Deleuze JF, Owen MJ, Gudnason V, Mayeux R, Escott-Price V, Psaty BM, Ramirez A, Wang LS, Ruiz A, van Duijn CM, Holmans PA, Seshadri S, Williams J, Amouyel P, Schellenberg GD, Lambert JC, Pericak-Vance MA.

Genetic meta-analysis of diagnosed Alzheimer's disease identifies new risk loci and implicates A β , tau, immunity and lipid processing.

Nature Genetics 2019;51(3):414-30.

Premi E, Calhoun VD, Diano M, Gazzina S, Cosseddu M, Alberici A, Archetti S, Paternicò D, Gasparotti R, van Swieten J, Galimberti D, Sanchez-Valle R, Laforce R Jr, Moreno F, Synofzik M, Graff C, Masellis M, Tartaglia MC, Rowe J, Vandenberghe R, Finger E, Tagliavini F, de Mendonça A, Santana I, Butler C, Ducharme S, Gerhard A, Danek A, Levin J, Otto M, Frisoni G, Cappa S, Sorbi S, Padovani A, Rohrer JD, Borroni B; Genetic FTD Initiative, GENFI.

The inner fluctuations of the brain in presymptomatic Frontotemporal Dementia: The chronnectome fingerprint.

Neuroimage 2019;189:645-54. IF=5,812

Gallucci M, Dell'Acqua C, Bergamelli C, Fenoglio C, Serpente M, Galimberti D, Fiore V, Medea S, Gregianin M, Di Battista ME.

A Case with Early Onset Alzheimer's Disease, Frontotemporal Hypometabolism, ApoE Genotype $\epsilon 4/\epsilon 4$ and C9ORF72 Intermediate Expansion: A Treviso Dementia (TREDEM) Registry Case Report.

Journal of Alzheimer's Disease 2019;67(3):985-93.

Dalmasso MC, Brusco LI, Olivar N, Muchnik C, Hanses C, Milz E, Becker J, Heilmann-Heimbach S, Hoffmann P, Prestia FA, Galeano P, Avalos MSS, Martinez LE, Carulla ME, Azurmendi PJ, Liberczuk C, Fezza C, Sampaño M, Fierens M, Jemar G, Solis P, Medel N, Lisso J, Sevillano Z, Bosco P, Bossù P, Spalletta G, Galimberti D, Mancuso M, Nacmias B, Sorbi S, Mecocci P, Pilotto A, Caffarra P, Panza F, Bullido M, Clarimon J, Sánchez-Juan P, Coto E, Sanchez-Garcia F, Graff C, Ingelsson M, Bellenguez C, Castaño EM, Kairiyama C, Politis DG, Kochen S, Scaro H, Maier W, Jessen F, Mangone CA, Lambert JC, Morelli L, Ramirez A. Transethnic meta-analysis of rare coding variants in PLCG2, ABI3, and TREM2 supports their general contribution to Alzheimer's disease.

Translational Psychiatry 2019;9(1):55.

Galimberti D, Fenoglio C, Ghezzi L, Serpente M, Arcaro M, D'Anca M, De Riz M, Arighi A, Fumagalli GG, Pietroboni AM, Piccio L, Scarpini E.

Inflammatory expression profile in peripheral blood mononuclear cells from patients with Nasu-Hakola Disease.

Cytokine 2019;116:115-9. IF=3,078

Fumagalli GG, Sacchi L, Basilico P, Arighi A, Carandini T, Scarioni M, Colombi A, Pietroboni A, Ghezzi L, Fenoglio C, Serpente M, D'anca M, Arcaro M, Mercurio M, Triulzi F, Scola E, Marotta G, Scarpini E, Galimberti D.

Monozygotic Twins with Frontotemporal Dementia Due To Thr272fs GRN Mutation Discordant for Age At Onset.

Journal of Alzheimer's Disease 2019;67(4):1173-9.

Mutsaerts HJMM, Mirza SS, Petr J, Thomas DL, Cash DM, Bocchetta M, de Vita E, Metcalfe AWS, Shirzadi Z, Robertson AD, Tartaglia MC, Mitchell SB, Black SE, Freedman M, Tang-Wai D, Keren R, Rogaeva E, van Swieten J, Laforce R, Tagliavini F, Borroni B, Galimberti

D, Rowe JB, Graff C, Frisoni GB, Finger E, Sorbi S, de Mendonça A, Rohrer JD, MacIntosh BJ, Masellis M;

GENFI consortium . Cerebral perfusion changes in presymptomatic genetic frontotemporal dementia: a GENFI study.

Brain 2019;142(4):1108-20.

Gazzina S, Grassi M, Premi E, Cosseddu M, Alberici A, Archetti S, Gasparotti R, Van Swieten J, Galimberti D, Sanchez-Valle R, Laforce RJ, Moreno F, Synofzik M, Graff C, Masellis M, Tartaglia MC, Rowe JB, Vandenberghe R, Finger E, Tagliavini F, de Mendonça A, Santana I, Butler CR, Ducharme S, Gerhard A, Danek A, Levin J, Otto M, Frisoni G, Sorbi S, Padovani A, Rohrer JD, Borroni B;

Genetic FTD Initiative, GENFI. Education modulates brain maintenance in presymptomatic frontotemporal dementia.

Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry 2019;90(10):1124-30.

Marchi C, Adorni MP, Caffarra P, Ronda N, Spallazzi M, Barocco F, Galimberti D, Bernini F, Zimetti F.

ABCA1- and ABCG1-mediated cholesterol efflux capacity of cerebrospinal fluid is impaired in Alzheimer's disease.

Journal of Lipid Research 2019 60(8):1449-56.IF=4,743

Arighi A, Di Cristofori A, Fenoglio C, Borsa S, D'Anca M, Fumagalli GG, Locatelli M, Carrabba G, Pietroboni AM, Ghezzi L, Carandini T, Colombi A, Scarioni M, De Riz MA, Serpente M, Rampini PM, Scarpini E, Galimberti D.

Cerebrospinal Fluid Level of Aquaporin4: A New Window on Glymphatic System Involvement in Neurodegenerative Disease?

Journal Alzheimers Disease 2019;69(3):663-9.

Gallucci M, Dell'Acqua C, Boccaletto F, Fenoglio C, Galimberti D, Di Battista ME.

Overlap Between Frontotemporal Dementia and Dementia with Lewy Bodies: A Treviso Dementia (TREDEM) Registry Case Report.

Journal Alzheimers Disease 2019;69(3):83947.

IF=3,517

Meeter LHH, Steketee RME, Salkovic D, Vos ME, Grossman M, McMillan CT, Irwin DJ, Boxer AL, Rojas JC, Olney NT, Karydas A, Miller BL, Pijnenburg YAL, Barkhof F, Sánchez-Valle R, Lladó A, Borrego-Ecija S, Diehl-Schmid J, Grimmer T, Goldhardt O, Santillo AF, Hansson O, Vestberg S, Borroni B, Padovani A, Galimberti D, Scarpini E, Rohrer JD, Woollacott IOC, Synofzik M, Wilke C, de Mendonca A, Vandenberghe R, Benussi L, Ghidoni R, Binetti G, Niessen WJ, Papma JM, Seelaar H, Jiskoot LC, de Jong FJ, Donker Kaat L, Del Campo M, Teunissen CE, Bron EE, Van den Berg E, Van Swieten JC.

Clinical value of cerebrospinal fluid neurofilament light chain in semantic dementia. Journal of Neurology,

Neurosurgery and Psychiatry 2019;90(9):997-1004. IF=8,327

D'Addario C, Bellia F, Benatti B, Grancini B, Vismara M, Pucci M, De Carlo V, Viganò C, Galimberti D, Fenoglio C, Scarpini E, Maccarrone M, Dell'Osso B. Exploring the role of BDNF DNA methylation and hydroxymethylation in patients with obsessive compulsive disorder.

Journal of Psychiatric Research 2019;114:17-23. IF=3,917

Massacesi L, Galliera E, Galimberti D, Fenoglio C, Arcaro M, Goi G, Barassi A, Corsi Romanelli MM.

Lag-time in Alzheimer's disease patients: a potential plasmatic oxidative stress marker associated with ApoE4 isoform.

Immunity and Ageing 2019;16:7.

Costa AS, Guerini FR, Arosio B, Galimberti D, Zanzottera M, Bianchi A, Nemni R, Clerici M. *SNARE Complex Polymorphisms Associate with Alterations of Visual Selective Attention in Alzheimer's Disease.*

Journal Alzheimers Disease 2019;69(1):179-88.

Galimberti D.

Genetic risk factors and role of immune dysfunction in FTLD.

Nature Reviews in Neurology 2019;15(5):250-1. IF=21,155

Dianzani C, Vecchio D, Clemente N, Chiocchetti A, Martinelli Boneschi F, Galimberti D, Dianzani U, Comi C, Mishto M, Liepe J.

Untangling Extracellular Proteasome-Osteopontin Circuit Dynamics in Multiple Sclerosis.

Cells 2019;8(3).

Bonham LW, Steele NZR, Karch CM, Broce I, Geier EG, Wen NL, Momeni P, Hardy J, Miller ZA, Gorno-Tempini ML, Hess CP, Lewis P, Miller BL, Seeley WW, Manzoni C, Desikan RS, Baranzini SE, Ferrari R, Yokoyama JS; International FTD-Genomics Consortium (IFGC, including Galimberti D).

Genetic variation across RNA metabolism and cell death gene networks is implicated in the semantic variant of primary progressive aphasia.

Scientific Reports 2019;9(1):10854.

Carandini T, Arighi A, Sacchi L, Fumagalli GG, Pietroboni AM, Ghezzi L, Colombi A, Scarioni M, Fenoglio C, De Riz MA, Marotta G, Scarpini E, Galimberti D.

Testing the 2018 NIA-AA research framework in a retrospective large cohort of patients with cognitive impairment: from biological biomarkers to clinical syndromes.

Alzheimers Research & Therapy 2019;11(1):84. IF=6,142

Tavares TP, Mitchell DGV, Coleman K, Shoesmith C, Bartha R, Cash DM, Moore KM, van Swieten J, Borroni B, Galimberti D, Tartaglia MC, Rowe J, Graff C, Tagliavini F, Frisoni G, Cappa S, Laforce R Jr, de Mendonça A, Sorbi S, Wallstrom G, Masellis M, Rohrer JD, Finger EC;

Genetic FTD Initiative, GENFI. Ventricular volume expansion in presymptomatic genetic frontotemporal dementia.

Neurology 2019;93(18):e1699-e1706.

D'Anca M, Fenoglio C, Serpente M, Arosio B, Cesari M, Scarpini EA, Galimberti D.

Exosome Determinants of Physiological Aging and Age-Related Neurodegenerative Diseases.

Frontiers in Aging Neuroscience 2019;11:232.

van der Ende EL, Meeter LH, Poos JM, Panman JL, Jiskoot LC, Doppler EGP, Papma JM, de Jong FJ, Verberk IMW, Teunissen C, Rizopoulos D, Heller C, Convery RS, Moore KM, Bocchetta M, Neason M, Cash DM, Borroni B, Galimberti D, Sanchez-Valle R, Laforce R Jr, Moreno F, Synofzik M, Graff C, Masellis M, Carmela Tartaglia M, Rowe JB, Vandenberghe R, Finger E, Tagliavini F, de Mendonça A, Santana I, Butler C, Ducharme S, Gerhard A, Danek A, Levin J, Otto M, Frisoni GB, Cappa S, Pijnenburg YAL, Rohrer JD, van Swieten JC;

Genetic Frontotemporal dementia Initiative (GENFI). Serum neurofilament light chain in genetic frontotemporal dementia: a longitudinal, multicentre cohort study.

Lancet Neurology 2019;18(12):1103-11.

Sudre CH, Bocchetta M, Heller C, Convery R, Neason M, Moore KM, Cash DM, Thomas DL, Woollacott IOC, Foiani M, Heslegrave A, Shafei R, Greaves C, van Swieten J, Moreno F, Sanchez-Valle R, Borroni B, Laforce R Jr, Masellis M, Tartaglia MC, Graff C, Galimberti D, Rowe JB, Finger E, Synofzik M, Vandenberghe R, de Mendonça A, Tagliavini F, Santana I, Ducharme S, Butler C, Gerhard A, Levin J, Danek A, Frisoni GB, Sorbi S, Otto M, Zetterberg H, Ourselin S, Cardoso MJ, Rohrer JD; GENFI.

White matter hyperintensities in progranulin-associated frontotemporal dementia: A longitudinal GENFI study.

Neuroimage Clinical 2019;24:102077.

Bianchetti A, Ferrara N, Padovani A, Scarpini E, Trabucchi M, Maggi S. Timely Detection of Mild Cognitive Impairment in Italy: An Expert Opinion.

Journal Alzheimers Disease 2019;68(4):1401-14.

Limongi F, Noale M, Bianchetti A, Ferrara N, Padovani A, Scarpini E, Trabucchi M, Maggi S; MCI Working Group. *The instruments used by the Italian centres for cognitive disorders and dementia to diagnose mild cognitive impairment (MCI).*

Aging Clinical and Experimental Research 2019;31(1):101-7.

Pietroboni AM, Dell'Arti L, Caprioli M, Scarioni M, Carandini T, Arighi A, Ghezzi L, Fumagalli GG, De Riz MA, Basilico P, Colombi A, Benatti E, Triulzi F, Scarpini E, Viola F, Galimberti D.

The loss of macular ganglion cells begins from the early stages of disease and correlates with brain atrophy in multiple sclerosis patients.

Multiple Sclerosis 2019;25(1):31-8.

Scarpazza C, Signori A, Prosperini L, Sormani MP, Cosottini M, Capra R, Gerevini S; Italian PML Group (including Scarpini E, De Riz M).

Early diagnosis of progressive multifocal leucoencephalopathy: longitudinal lesion evolution.

Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry 2019;90(3):261-7.

Trojano M, Bergamaschi R, Amato MP, Comi G, Ghezzi A, Lepore V, Marrosu MG, Mosconi P, Patti F, Ponzio M, Zaratin P, Battaglia MA; Italian Multiple Sclerosis Register Centers Group (including Scarpini E).

The Italian multiple sclerosis register.

Neurological Sciences 2019;40(1):155-65.

International Multiple Sclerosis Genetics Consortium (Including Galimberti D).

Multiple sclerosis genomic map implicates peripheral immune cells and microglia in susceptibility.

Science 2019;365(6460).IF=41,063

Delvecchio G, Mandolini GM, Arighi A, Prunas C, Mauri CM, Pietroboni AM, Marotta G, Cinnante CM, Triulzi FM, Galimberti D, Scarpini E, Altamura AC, Brambilla P.

Structural and metabolic cerebral alterations between elderly bipolar disorder and behavioural variant frontotemporal dementia: A combined MRI-PET study.

Aust N Z J Psychiatry 2019;53(5):413-23. IF=5,084

Di Fonzo A, Franco G, Barone P, Erro R. Int

Parkinsonism in diseases predominantly presenting with dystonia.

Rev Neurobiol. 2019;149:307-326. doi: 10.1016/bs.irm.2019.10.007. Epub 2019 Nov 21.

Picillo M, Cuoco S, Amboni M, Bonifacio FP, Bruschi F, Carotenuto I, De Micco R, De Rosa A, Del Prete E, Di Biasio F, Elifani F, Erro R, Fabbri M, Falla M, Franco G, Frosini D, Galantucci S, Lazzeri G, Magistrelli L, Malaguti MC, Milner AV, Minafra B, Olivola E, Pilotto A, Rascunà C, Rizzetti MC, Schirinzi T, Borroni B, Ceravolo R, Di Fonzo A, Marchese R, Mercuri NB, Modugno N, Nicoletti A, Padovani A, Santangelo G, Stefani A, Tessitore A, Volontè MA, Zangaglia R, Zappia M, Zibetti M, Barone P.

Validation of the Italian version of the PSP Quality of Life questionnaire.

Neurol Sci. 2019 Dec;40(12):2587-2594. doi: 10.1007/s10072-019-04010-2. Epub 2019 Jul 26.

Monzio Compagnoni G, Di Fonzo

Understanding the pathogenesis of multiple system atrophy: state of the art and future perspectives.

A. Acta Neuropathol Commun. 2019 Jul 12;7(1):113. doi: 10.1186/s40478-019-0730-6. Review.

Picillo M, Cuoco S, Amboni M, Bonifacio FP, Bruno A, Bruschi F, Cappiello A, De Micco R, De Rosa A, Di Biasio F, Elifani F, Erro R, Fabbri M, Falla M, Franco G, Frosini D, Galantucci S, Lazzeri G, Magistrelli L, Malaguti MC, Milner AV, Minafra B, Olivola E, Pilotto A, Rascunà C, Rizzetti MC, Schirinzi T, Borroni B, Ceravolo R, Di Fonzo A, Lopiano L, Marchese R, Mercuri NB, Modugno N, Nicoletti A, Padovani A, Santangelo G, Stefani A, Tessitore A, Volontè MA, Zangaglia R, Zappia M, Barone P.

Validation of the Italian version of carers' quality-of-life questionnaire for parkinsonism (PQoL Carer) in progressive supranuclear palsy.

Neurol Sci. 2019 Oct;40(10):2163-2169. doi: 10.1007/s10072-019-03944-x. Epub 2019 Jun 12.

Riboldi GM, Di Fonzo AB.

GBA, Gaucher Disease, and Parkinson's Disease: From Genetic to Clinic to New Therapeutic Approaches.

Cells. 2019 Apr 19;8(4). pii: E364. doi: 10.3390/cells8040364. Review.

Bagnato F, Franco G, Li H, Kaden E, Ye F, Fan R, Chen A, Alexander DC, Smith SA, Dortch R, Xu J.

Probing axons using multi-compartmental diffusion in multiple sclerosis.

Ann Clin Transl Neurol. 2019 Sep;6(9):1595-1605. doi: 10.1002/acn3.50836. Epub 2019 Aug 13.

Bagnato F, Franco G, Ye F, Fan R, Commiskey P, Smith SA, Xu J, Dortch R.

Selective inversion recovery quantitative magnetization transfer imaging: Toward a 3 T clinical application in multiple sclerosis.

Mult Scler. 2019 Mar 25:1352458519833018. doi: 10.1177/1352458519833018. [Epub ahead of print]

Fanciulli A, Goebel G, Lazzeri G, Scherfler C, Gizewski ER, Granata R, Kiss G, Strano S, Colosimo C, Pontieri FE, Kaufmann H, Seppi K, Poewe W, Wenning GK.

Early distinction of Parkinson-variant multiple system atrophy from Parkinson's disease.

Mov Disord. 2019 Mar;34(3):440-441. doi: 10.1002/mds.27635. Epub 2019 Feb 20

Fanciulli A, Goebel G, Lazzeri G, Granata R, Kiss G, Strano S, Colosimo C, Pontieri FE, Kaufmann H, Seppi K, Poewe W, Wenning GK.

Urinary retention discriminates multiple system atrophy from Parkinson's disease.

Mov Disord. 2019 Dec;34(12):1926-1928. doi: 10.1002/mds.27917. Epub 2019 Nov 11. No abstract available.

Clementina Sitzia, Mirella Meregalli, Marzia Belicchi, Andrea Farini, Maddalena Arosio, Denise Bestetti, Chiara Villa, Luca Valenti, Paolo Brambilla and Yvan Torrente

Preliminary Evidences of Safety and Efficacy of Flavonoids- and Omega 3-Based Compound for Muscular Dystrophies Treatment: A Randomized Double-Blind Placebo Controlled Pilot Clinical Trial

Stem Cell Laboratory, Department of Pathophysiology and Transplantation, Università degli Studi di Milano, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Centro Dino Ferrari, Milan, Italy

Frontiers in Neurology, July 2019 | Volume 10 | Article 755

Pamela Bella, Andrea Farini, Stefania Banfi, Daniele Parolini, Noemi Tonna, Mirella Meregalli, Marzia Belicchi, Silvia Erratico, Pasqualina D'Ursi, Fabio Bianco, Mariella Legato, Chiara Ruocco, Clementina Sitzia, Simone Sangiorgi, Chiara Villa, Giuseppe D'Antona, Luciano Milanese, Enzo Nisoli, PierLuigi Mauri & Yvan Torrente.

Blockade of IGF2R improves muscle regeneration and ameliorates Duchenne muscular dystrophy

Stem Cell Laboratory, Department of Pathophysiology and Transplantation, Università degli Studi di Milano, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Centro Dino Ferrari, Milan, Italy

EMBO Molecular Medicine 12: e11019 | 2020.

Andrea Farini, Aoife Gowran, Pamela Bella, Clementina Sitzia, Alessandro Scopece, Elisa Castiglioni, Davide Rovina, Patrizia Nigro, Chiara Villa, Francesco Fortunato, Giacomo Pietro Comi, Giuseppina Milano, Giulio Pompilio, and Yvan Torrente

Fibrosis Rescue Improves Cardiac Function in Dystrophin-Deficient Mice and Duchenne Patient-Specific Cardiomyocytes by Immunoproteasome Modulation

Stem Cell Laboratory, Department of Pathophysiology and Transplantation, Università degli Studi di Milano, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Centro Dino Ferrari, Milan, Italy

The American Journal of Pathology

Rovina Davide, Castiglioni Elisa, Farini Andrea, Belicchi Marzia, Gervasini Cristina, Paganini Stefania, Di Segni Marina, Santoro Rosaria, Torrente Yvan, Pompilio Giulio, Gowran Aoife
Establishment of a Duchenne muscular dystrophy patient-derived induced pluripotent stem cell line carrying a deletion of exons 51–53 of the dystrophin gene (CCMi003-A)

Stem Cell Laboratory, Department of Pathophysiology and Transplantation, Università degli Studi di Milano, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Centro Dino Ferrari, Milan, Italy

Stem Cell Research 40 (2019) 101544

Valeria Di Stefano, Margherita Migone De Amicis, Cecilia Bonino, Natalia Scaramellini, Yvan Torrente, Stefania Piconi, Francesca Minonzio

Myalgia, Obtundity and Fever in a Patient with a Prosthesis

Stem Cell Laboratory, Department of Pathophysiology and Transplantation, Università degli Studi di Milano, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Centro Dino Ferrari, Milan, Italy

Poletti B., Carelli L., Solca F., Pezzati R., Faini A., Ticozzi N., Mitsumoto H., Silani V.
Sexuality and intimacy in ALS: systematic literature review and future perspectives.

J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2019. doi: 10.1136/jnnp-2018-319684;

Verde F., Steinacker P, Jochen H Weishaupt, Jan Kassubek , Patrick Oeckl , Steffen Halbgebauer , Hayrettin Tumanı , Christine A F von Arnim , Johannes Dorst , Emily Feneberg Benjamin Mayer, Hans-Peter Müller, Martin Gorges , Angela Rosenbohm , Alexander E Volk Vincenzo Silani , Albert C Ludolph , Markus Otto.

J. Neurol Neurosurg Psychiatry 2019, 90 (2), 157-164. doi: 10.1136/jnnp-2018-318704

Pattee G.L., Plowman E.K., Garand K.L.F., Costello J., Brooks B.R., Berry J.D., Smith R.A., Atassi N., Chapin J.L., Yunusova Y., McIllduff C.E., Young E., Macklin E.A., Locatelli E.R., Silani V., Heitzman D., Wymer J., Goutman S.A., Gelinas D.F., Perry B., Nalipinski P., Stipancic K., O'Brien M., Sullivan S.L., Pioro e.P., Gargiulo G., J.R. & Contributing Members of the NEALS Bulbar Subcommittee.

Provisional best practices guidelines for the evaluation of bulbar dysfunction in ALS.

Muscle & Nerve, 2019 Jan 8. doi: 10.1002/mus.26408;

van den Berg L.H., Sorensen E., Gronseth G., Macklin E.A., PhD, Andrews J., Baloh R.H., Benatar M., Berry J.D., Chio A., Corcia P., MD, Genge A., Gubitz A.K., Lomen-Hoerth C., McDermott C.J., Pioro E.P., Rosenfeld J., Silani V., Turner M.R., Markus Weber M., Brooks B.R., MD, Miller R.G., Mitsumoto H., for Airlie House ALS Clinical Trials Guidelines Group.

Revised Airlie House Consensus Guidelines for Design and Implementation of ALS Clinical Trials.

Neurology 2019;92:e1-e14. doi:10.1212/WNL.0000000000;

Casana R., Malloggi C. Tolva V.S., Odero A. Jr., Bulbulia R., Halliday A., Silani V., Parati G. *Three-year outcomes after carotid artery revascularization: Gender-related differences.*

Vascular 2019 Mar 12;1708538119836312. doi: 10.1177/1708538119836312;

Verde F., Tiloca C., Morelli C., Doretta A., Poletti B., Maderna L., Messina S., Gentilini D., Fogh I., Ratti A., Silani V., Ticozzi N.

PON1 is a disease modifier gene in amyotrophic laterale sclerosis: association of the Q192R polymorphism with bulbar onset and reduced survival.

Neurol Sci 2019. doi.org/10.1007/s10072-019-03834-2;

Trojsi F., Siciliano M., Ferniano C., Santangelo G., Lunetta C., Calvo A., Moglia C., Marinou K., Ticozzi N., Ferro C., Scialò C., Sorarù G., Conte A., Falzone Y.M., Tortelli R., Russo M., Sansone V.A., Chiò A., Mora G., Silani V., Volanti P., Caponnetto C., Querin G., Sabatelli M., Riva N., Logroscino G., Messina S., Fasano A., Monsurrò M.R. Tedeschi G., Mandrioni J.

Comparative analysis of C9orf72 and sporadic disease in a large multicenter ALS population: the effect of male sex on survival of C9orf72 positive patients.

Front Neurosci 2019 May 17;13:485. doi: 10.3389/fnins.2019.00485. eCollection 2019;

Mandrioli J., Zucchi E., Gessani A., Bonetto V., Carra S., Cereda C., Ceroni M., Chiò A., Crippa V., D'Amico R., Monsurrò M.R., Riva N. Sabatelli M., Silani V., Simone I.L., Sorarù G., Poletti P.; co-ALS investigators group.

Proteostasis and ALS: protocol for a phase II, randomized, double blind, placebo controlled, multicenter clinical trial for Colchicine in ALS (Co-ALS).

BMJ Open 2019 May 30;9(5):e028486. doi: 10.1136/bmjopen-2018-028486;

Verde F., Silani V., Otto M.

Neurochemical biomarkers in amyotrophic lateral sclerosis.

Curr Opin Neurol 2019Oct;32(5):747-757. doi: 10.1097/ WCO.0000000000000744 ;

Gumina V., Colombrita C., Fallini C., Bossolasco P., Maraschi A.M., Landers J.E., Silani V., Ratti A.

TDP-43 and NOVA-1 RNA-binding proteins as competitive splicing regulators of the schizophrenia-associated TNIK gene.

Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech. 2019 Aug 2;1862(9):194413. doi: 10.1016/j.bbgrm.2019.194413;

Casana R, Tolva VS, Odero A Jr, Malloggi C, Silani V, Parati G.

Carotid artery stenting is safe and effective for symptomatic patients with acute coronary syndrome.

Catheter Cardiovasc Interv. 2019 Aug 13. doi: 10.1002/ccd.28445. PMID: 31410994;

Carelli L., Solca F., Torre S., Pasquini J., Morelli C., Pezzati R., Mancini F., Ciammola A., Silani V., Poletti B.

A novel approach for investigating Parkinson's Disease personality and its association with clinical and psychological aspects.

Front Psychol. Oct 11;10:2265. doi: 10.3389/fpsyg.2019.02265. eCollection 2019. PMID:, 31681080;

Ciammola A., Sangalli D., Sassone J., Poletti B., Carelli L., Banfi P.I., Pappacoda G., Ceccherini I., Grossi A., Maderna L., Pingue M., Girotti F., Silani V.

A novel mutation of GFAP causing adult-onset Alexander disease.

Frontiers in Neurology, 10, 1124, 2019. doi: 10.3389/fneur.2019.01124;

Gumina V., Onesto E., Colombrita C., Maraschi A.M., Silani V., Ratti A.

Inter-Species differences in regulation of the progranulin-sortilin axis in TDP-43 cell models of neurodegeneration.

Int J Mol Sci, 2019, 20, 5866. doi: 10.3390/ijms20235866. PMID 31766750;

Morelli C., Tiloca C., Colombrita C., Zambon A., Soranna D., Lafronza A., Solca F., Carelli L.¹, Poletti B., Doretto A., Verde F.¹, Maderna L., Ticozzi N., Ratti A., Silani V.

*CSF Angiogenin levels in Amyotrophic Lateral Sclerosis-Frontotemporal dementia spectrum. **Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration**,*

doi: 10.1080/21678421.2019.1704016;

Turner M.R., Barohn R.J., Corcia P., Fink J.K., Harms M.B., Kiernan M. C., Ravits J., Silani V., Simmons Z., Statland J.², van den Berg L.H.,

Delegates of the 2nd International PLS Conference, Mitsumoto H. Primary lateral sclerosis: consensus diagnostic criteria.

J Neurol Neurosurg Psychiatry, doi: 10.1136/JNNP-2019-322541;

Contarino VE, Conte G, Morelli C, Trogu F, Scola E, Calloni SF, Sanmiguel Serpa LC, Liu C, Silani V, Triulzi F..

Toward a marker of upper motor neuron impairment in amyotrophic lateral sclerosis: a fully automatic investigation of the magnetic susceptibility in the precentral cortex.

Eur J Radiol, 2020 Jan 11;124:108815. doi: 10.1016/j.ejrad.2020.108815;

Bardelli D., Sassone F., Colombrita C., Volpe C., Gumina V., Peverelli S., Catusi I., Ratti A., Silani V., Bossolasco P.

Reprogramming fibroblasts and peripheral blood cells from a C9ORF72 patient: a proof-of-principle study.

J Cell Mol Med, in press, 2019;

Ratti A., Gumina V., Lenzi P., Bossolasco P., Fulceri F., Volpe C., Bardelli D., Pregnotato F., Maraschi A., Fornai F., Silani V., Colombrita C.

Induction of chronic stress reveals an interplay of stress granules and TDP-43 pathological aggregates in human ALS fibroblasts and iPSC-neurons.

Under revision, 2019;

Poletti B., Carelli L., Lunetta C., Silani V.

Advance care planning and mental capacity in ALS: a current challenge for an unsolved matter.

Under final revision, 2019;