



UNIVERSITÀ DI MILANO
“CENTRO DINO FERRARI”

PER LA DIAGNOSI E LA TERAPIA DELLE MALATTIE
NEUROMUSCOLARI, NEURODEGENERATIVE E CEREbroVASCOLARI



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

2023

COORDINATORE SCIENTIFICO PROF. GIACOMO PIETRO COMI

Via F. Sforza, 35 - 20122 Milano – Tel. 02.5503.3809 - Fax 02.5503.3800

E-mail: giacomo.comi@unimi.it - centro.dinoferrari@policlinico.mi.it - www.centrodinoferrari.com

SEZIONI DEL “CENTRO DINO FERRARI”

LABORATORIO DI BIOCHIMICA E GENETICA	Pag. 3
LABORATORIO DI NEUROIMMUNOLOGIA CLINICA	Pag. 25
LABORATORIO CELLULE STAMINALI NEURALI	Pag. 39
S.S.D. MALATTIE NEUROMUSCOLARI E RARE	Pag. 53
CENTRO PARKINSON E ALTRI DISTURBI DEL MOVIMENTO	Pag. 65
LABORATORIO DI CELLULE STAMINALI	Pag. 73
STROKE UNIT	Pag. 83
S.S.D. MALATTIE NEURODEGENERATIVE	Pag. 89
SEZIONE DISTACCATA CENTRO “DINO FERRARI” U.O. NEUROLOGIA e U.O. NEUROFISIOLOGIA LABORATORIO SPERIMENTALE DI NEUROSCIENZE ISTITUTO AUXOLOGICO ITALIANO IRCCS	Pag. 105
SEZIONE DISTACCATA CENTRO “DINO FERRARI” LABORATORIO ULTRASPECIALISTICO DI GENETICA MEDICA CON AREE DI GENETICA MOLECOLARE E CITOGENETICA, UNITÀ DI BIOINFORMATICA E BIOLOGIA COMPUTAZIONALE – IRCCS E. MEDEA	Pag. 135

LABORATORIO DI BIOCHIMICA E GENETICA

RESPONSABILE

Prof. Giacomo Pietro Comi

MEDICI

Dott.sa Francesca Magri

Dott.sa Megi Meneri

Dott.sa Martina Rimoldi

Dott.sa Gloria Romagnoli

Dr.ssa Elena Abati

Dr. Mosè Parisi

BIOLOGI

Dott. Roberto Del Bo

Dott.sa Sabrina Lucchiari

Dott.sa Daniela Piga

Dott.sa Domenica Saccomanno

BIOTECNOLOGI

Prof. Dario Ronchi

Dott.sa Serena Pagliarani

Dott.sa Sara Antognozzi

TECNICI

Sig. Francesco Fortunato

Sig.ra Letizia Bertolasi

Il Laboratorio di Biochimica e Genetica delle Malattie Neuromuscolari fa parte dell'UOC Neurologia della Fondazione Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico di Milano ed è sito all'interno della Fondazione in via Francesco Sforza 35. Gli spazi del laboratorio comprendono un'area di 450 mq al piano terra ed al piano seminterrato del Padiglione Ex-Convitto Suore (Direzione Medica di Presidio) e i locali adibiti ad estrazione di DNA ed analisi di sequenza ubicati presso il Padiglione Invernizzi. La missione del Laboratorio è la definizione delle cause biochimiche e genetiche di un ampio gruppo di patologie neurologiche, ed in particolare alcune forme di malattie genetiche neuromuscolari che comprendono, tra le altre, le Distrofinopatie (Distrofia Muscolare di Duchenne e Becker, DMD e BMD), le Distrofie Muscolari dei cingoli (Limb Girdle Muscular Dystrophy, LGMD), le Miopatie Congenite (CM), le miopatie metaboliche con alterazione del metabolismo glucidico (es. Glicogenosi), lipidico e del metabolismo ossidativo (es. Malattie Mitocondriali), le malattie neurodegenerative del motoneurone ad esordio infantile (es. Amiotrofia Spinale SMA5q) ed adulto (es. Sclerosi Laterale Amiotrofica). L'incidenza di queste patologie seppur variabile è comunque inferiore a 1:10000 (malattie rare). Il Laboratorio è punto di riferimento per l'analisi di alcune forme rarissime (neglette) di patologie neuromuscolari dell'infanzia come l'Amiotrofia Spinale con Distress Respiratorio (SMARD1, 1:100.000) e l'Amiotrofia Spinale con Epilessia Mioclonica Progressiva (SMA-PME, 1:1.000.000). Complessivamente le forme monogeniche di malattia neuromuscolare diagnosticate nel Laboratorio sono più di 100, analizzate mediante l'uso di un ampio numero di tecniche molecolari. L'attività di diagnosi molecolare di queste condizioni rare di malattia è stimabile complessivamente in circa 600 prestazioni / anno erogate dal Laboratorio di Biochimica e Genetica dell'UOC di Neurologia.

Il Laboratorio è articolato in un'ampia area di ricerca scientifica come parte del Centro Dino Ferrari, una struttura dell'Università degli Studi di Milano dedicata alla comprensione dell'eziopatogenesi delle malattie neuromuscolari e neurodegenerative ed alla messa a punto di terapie farmacologiche e molecolari per il loro trattamento. Accanto alla missione scientifica si colloca quella didattica, testimoniata dalla frequentazione del laboratorio di personale universitario (docente e non docente) strutturato convenzionato, di studenti dei corsi di Specializzazione in Neurologia e Genetica Medica, di studenti della Scuola di Dottorato in Medicina Molecolare, di studenti provenienti dai corsi di laurea in Medicina e Chirurgia, Medicina e Chirurgia (PhD), Biotecnologie Mediche e Farmaceutiche, Scienze Biologiche. Tecnico di Laboratorio Biomedico.

Al mondo si calcola che le patologie rare siano più di 8.000, e il 75% riguarda la popolazione pediatrica. Oltre il 50% delle malattie rare è di natura neurologica. L'identificazione del difetto molecolare alla base di queste patologie è rilevante per diverse finalità: i) conferma della diagnosi clinica o biochimica; ii) identificazione di specifici sottotipi della patologia in esame; iii) migliore definizione della prognosi, sulla base di correlazioni genotipo-fenotipo; iv) counselling genetico. Quest'ultimo aspetto rappresenta una sfida complessa. Infatti, nell'ambito delle malattie neurologiche rientrano patologie diverse per ereditarietà, età di esordio ed evoluzione con uno spettro che va da fenotipi ad esordio pediatrico (o neonatale) con aspetti sindromici (es. sindromi metaboliche genetiche) o limitati a specifici distretti (es. distrofie muscolari), fino a malattie dell'adulto, ad andamento progressivo, potenzialmente molto invalidanti (es. malattie neurodegenerative). L'identificazione del difetto molecolare assume oggi maggiore importanza dato che molti approcci sperimentali vengono sviluppati per la modifica temporanea (es. exon skipping, oligonucleotidi antisense) o la correzione permanente (terapia genica sostitutiva, editing genomico) del singolo difetto genetico. Inoltre, alcuni farmaci di nuova generazione sono indicati solo in pazienti portatori di uno specifico difetto molecolare rendendo l'identificazione di questo difetto cruciale (es. Ataluren nella Distrofia Muscolare di Duchenne dovuta a mutazioni che causano codoni di STOP prematuri), non solo per la definizione della patologia ma anche per l'accesso alla terapia (o ai trial clinici ad essa preliminari).

La diagnosi molecolare delle malattie neurologiche si avvale ora di una serie eterogena di tecniche di base (Southern blot, MLPA, PCR convenzionale o quantitativa) che trovano il culmine nel sequenziamento di geni malattia. Quest'approccio è particolarmente utile in presenza di opportuni indicatori (clinici, strumentali, biochimici) che possano indirizzare l'analisi molecolare ma non sempre è sufficiente (più geni che causano lo stesso fenotipo, es. distrofie muscolari dei cingoli) o conveniente (screening di geni di grandi dimensioni, es. DMD, NEB). Inoltre, molte patologie neurologiche presentano una elevata sovrapposizione clinica (es. disturbi del movimento) e una eterogeneità genetica tale (es. Sclerosi Laterale Amiotrofica) da rendere questa strategia, "trial and error", poco utile per il paziente (ritardo nella diagnosi, ripetizione di analisi in più centri) e per il sistema sanitario nazionale (aumento del numero degli esami, moltiplicazione dei costi). L'introduzione di tecniche basate sul sequenziamento di nuova generazione ha migliorato questo scenario con la definizione di pannelli di geni dedicati a specifiche malattie, analizzati in parallelo. Nonostante i vantaggi introdotti, questa strategia (gene panel sequencing) ha già rivelato i suoi limiti con un successo diagnostico rilevante ma incompleto in alcuni gruppi di malattie come le malattie metaboliche mitocondriali (PMC3523805), le atassie genetiche (PMC3784284, PMC3719425) o le distrofie muscolari (PMID25380242), un dato confermato anche presso il nostro centro (PMC4172906).

L'utilizzo di protocolli di sequenziamento di nuova generazione "estesi" all'esoma permette di superare alcuni dei limiti sopra individuati e risponde perfettamente ad alcune delle linee di ricerca affidate all'IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico.

Mentre l'esoma continua ad essere il riferimento per la ricerca di nuovi geni malattia, la sua applicazione in ambito clinico presenta una serie di difficoltà parzialmente legato al costo dell'analisi ma soprattutto derivanti dalla gestione (tecnica, scientifica, logistica) dei dati ottenuti da questi esperimenti. Dobbiamo anche osservare che anche l'uso dei pannelli genici dedicati ad alcune patologie può presentare dei limiti e non di rado lo stesso paziente, privo di diagnosi dopo la somministrazione di un pannello, deve essere reconsiderato per pannelli di altre patologie (magari sovrapponibili in parte con la sua storia clinica) eseguiti nel nostro laboratorio o in pannelli di altre istituzioni (il cui contenuto genico può essere in parte o grandemente diverso dai geni selezionati per le nostre analisi).

Un compromesso è l'uso dell'esoma clinico, uno strumento che indica l'arricchimento e l'analisi dei soli geni-malattia fin qui imputati nelle patologie mendeliane umane. Questo tipo di approccio realizza un pannello universale che consente di affrontare sia i geni di più grandi dimensioni associati ad un fenotipo, sia le cause genetiche associate a condizioni che entrano in diagnosi differenziale con la malattia di interesse. I geni indagati, circa 8000, costituiscono un impegno per la fase di analisi ma più affrontabile rispetto all'approccio più generale dell'esoma completo. Allo stesso tempo l'esoma clinico è compatibile con la strumentazione di automazione acquisita, migliorando la nostra capacità di generare risultati in tempi rapidi.

Nel corso del 2023 abbiamo applicato l'analisi dell'esoma clinico a circa 50 pazienti afferenti al Centro Dino Ferrari con una presentazione clinica nell'ambito neuromuscolare. Una diagnosi molecolare conclusiva è stata ottenuta in 12 di questi pazienti mentre varianti candidate sono attualmente in fase di studio e validazione per un elevato numero di altri soggetti. Alcuni esempi di casi per cui abbiamo ottenuto una diagnosi molecolare conclusiva sono qui riportati:

- Identificazione di mutazioni in geni complessi o di grande dimensione, come quelli che codificano per proteine canali muscolari, che possono ora essere analizzati in modo più efficiente ed economico. Esempi in questo ambito sono stati l'identificazione di una variante nel gene *SCN4A* in una forma di paramiotonia congenita o la scoperta di una variante nel gene *RYR1* associata ad una forma di ipertermia maligna.

- Identificazione di mutazioni in geni associati a presentazioni cliniche neurodegenerative rare. Tra gli esempi rilevanti vi è stata l'identificazione di una variante patogenica nel gene che codifica per la proteina Malina che ci ha permesso di definire a livello molecolare un nuovo caso di Malattia di Lafora, una grave malattia neurodegenerativa dominata da epilessia mioclonica spesso farmaco resistente. Il secondo risultato è stata l'identificazione di mutazioni bialleliche in eterozigosi composta nel gene *TPPA*, codificante il trasportatore della Vitamina E, in un caso famiglia di atassia con deficit di Vitamina E (AVED). Questa forma neurodegenerativa di disturbo del movimento presenta una base biochimica che può essere migliorata dalla supplementazione orale di Vitamina E, il cui trasporto è compromesso nei pazienti con la possibilità di rallentare o mitigare il decorso della malattia. Queste storie testimoniano non solo l'utilità dell'esoma clinico nel farci fare diagnosi che precedentemente non erano accessibili al nostro laboratorio ma illustrano anche l'importanza che la diagnosi molecolare può avere ai fini del counselling genetico e dell'accesso a terapie farmacologiche.
- Identificazione di varianti monoalleliche nel gene *CAPN3* in pazienti con IperCKemia con o senza lieve debolezza muscolare. Il gene *CAPN3* codifica per la Calpaina-3, proteasi principalmente espressa nel muscolo scheletrico. Mutazioni che portano alla perdita di funzione della Calpaina-3 sono associate a distrofia muscolare dei cingoli. La trasmissione può essere autosomica dominante (LGMD4, MIM 618129) o recessiva (LGMDR1, MIM 253600). Abbiamo identificato varianti patogeniche eterozigoti in alcuni pazienti con presentazioni neuromuscolari eterogenee. L'analisi della sequenza e l'applicazione di tecniche complementari ha escluso la presenza di varianti di carattere patogenico nel secondo allele. Uno studio collaborativo multicentrico è attualmente in corso per definire a livello nazionale l'incidenza e l'impatto delle varianti monoalleliche nel gene *CAPN3*.
- Identificazione di varianti in geni associati a forme rare di Sclerosi Laterale Amiotrofica. Un piccolo gruppo di geni (*C9ORF72*, *SOD1*, *TARDBP*, *FUS*) rappresentano il campo di indagine più rilevante per la diagnosi molecolare di SLA familiare e sporadica. Lo strumento dell'esoma clinico ci consente di esplorare un numero molto elevato di geni noti per essere associati a forme rare o rarissime di SLA. Abbiamo identificato varianti con un potenziale patogenico nei geni *SQSTM1*, *FIG4*, *SETX*, *NEK1*, *TRPM7* espandendo il repertorio genetico di queste forme poco conosciute di malattia del motoneurone.

Riportiamo di seguito alcuni dei contributi scientifici nello studio delle patologie neuromuscolari, neurodegenerative e cerebrovascolari ereditarie in cui sono stati coinvolti i membri del Laboratorio.

1) Malattie Muscolari

1.1 Studio clinico, molecolare ed elettrofisiologico di un caso familiare di Miopatia di Brody

Questo studio esemplifica come la disponibilità di nuove tecnologie combinata con la profonda conoscenza della patologia muscolare possa dare risposte in tempi accettabili a pazienti rari e ultrarari. Vengono definite malattie ultrarare quelle che hanno una frequenza inferiore ad un caso su un milione di persone. Tra queste si colloca la malattia di Brody.

La malattia di Brody è una miopatia autosomica recessiva caratterizzata da rigidità muscolare indotta dall'esercizio fisico che è causata da mutazioni a carico del gene *ATP2A1*, che codifica per la calcio ATPase SERCA1. Finora nella letteratura mondiale sono stati riportati circa 40 casi di questa patologia, quindi le nostre conoscenze sulla storia naturale, le correlazioni genotipo-fenotipo e gli effetti del trattamento, che è di tipo sintomatico, sono solo parziali. Questa limitata conoscenza della patologia causa il non-riconoscimento della malattia stessa e limita le probabilità di diagnosi.

In questo studio abbiamo descritto le caratteristiche cliniche e molecolari e i risultati dei test strumentali di due fratelli che presentavano rigidità muscolare indotta dall'esercizio fin dall'infanzia. Entrambi i pazienti presentavano difficoltà a salire le scale e a correre, frequenti cadute, ritardato rilassamento muscolare dopo sforzo. Tutti questi sintomi erano aggravati dal freddo.

L'elettromiografia non ha evidenziato scariche miotoniche. L'analisi dell'esoma (Whole Exome Sequencing) ha rivelato la presenza di due varianti nel gene *ATP2A1*: si tratta della microdelezione c.2464delC, già precedentemente descritta e correlata con la malattia di Brody, che causa un frameshift della lettura del trascritto derivato dal gene e quindi una sua prematura terminazione, e della nuova variante di splicing c.324+1G>A. Questa variante è considerata probabilmente patogenetica in quanto i suoi deleteri effetti sono stati dimostrati con l'analisi del trascritto. L'ereditarietà è stata analizzata con il sequenziamento Sanger anche dei genitori che non sono affetti. Questo studio contribuisce a migliorare le conoscenze riguardanti questa patologia ultrarara ed in particolare le cause genetiche alla base della malattia di Brody.

Velardo D, Antognozzi S, Rimoldi M, Pagliarani S, Cogiamanian F, Barbieri S, Corti S, Comi GP, Ronchi D.

"Case report: Clinical and molecular characterization of two siblings affected by Brody myopathy."

Front Neurol. 2023 Jun 2;14:1170071. doi: 10.3389/fneur.2023.1170071. eCollection 2023. PMID: 37332993 [IF = 4.086]

1.2 Uso di una cluster di analisi per superare i limiti delle correlazioni tradizionali fenotipo-genotipo: l'esempio delle malattie associate a *RYR1*

Grazie ai progressi nel sequenziamento del DNA, si è stabilito che la miopatia associata a *RYR1* (RYR1-RM) si manifesta in forme estremamente eterogenee. Ci siamo proposti di sviluppare un nuovo metodo di analisi non supervisionato in una vasta popolazione di pazienti. L'obiettivo era analizzare le principali caratteristiche legate a *RYR1* per identificare elementi distintivi di RYR1-RM e, quindi, offrire correlazioni più precise tra genotipo e fenotipo in un gruppo di disturbi potenzialmente pericolosi per la vita. Abbiamo studiato 600 pazienti con sospetto di miopatia ereditaria, indagati mediante sequenziamento di nuova generazione. Tra questi, 73 casi indice presentavano varianti in *RYR1*. Nel tentativo di raggruppare le varianti genetiche e sfruttare appieno le informazioni derivate dai dataset genetici, morfologici e clinici, abbiamo eseguito un'analisi di cluster non supervisionato in 64 probandi portatori di varianti monoalliche. La maggior parte dei 73 pazienti con diagnosi molecolare positiva erano clinicamente asintomatici o paucisintomatici. L'integrazione multimodale dei dati clinici e istologici ha raggruppato i 64 pazienti in 4 cluster con modelli distintivi di risultati clinici e morfologici. Affrontando la necessità di avere correlazioni genotipo-fenotipo più specifiche, abbiamo dimostrato che il clustering consente di superare i limiti del paradigma della "dimensione singola" tradizionalmente utilizzato per descrivere le relazioni genotipo-fenotipo.

Dosi C, Rubegni A, Baldacci J, Galatolo D, Doccini S, Astrea G, Berardinelli A, Bruno C, Bruno G, Comi GP, Donati MA, Dotti MT, Filosto M, Fiorillo C, Giannini F, Gigli GL, Grandis M, Lopercolo D, Magri F, Maioli MA, Malandrini A, Massa R, Matà S, Melani F, Messina S, Mignarri A, Moggio M, Pennisi EM, Pegoraro E, Ricci G, Sacchini M, Schenone A, Sampaolo S, Sica M, Siciliano G, Tasca G, Tonin P, Tupler R, Valente M, Volpi N, Cassandrini D, Santorelli FM.

"Using Cluster Analysis to Overcome the Limits of Traditional Phenotype-Genotype Correlations: The Example of RYR1-Related Myopathies."

Genes (Basel). 2023 Jan 23;14(2):298. doi: 10.3390/genes14020298. PMID: 36833224. [IF = 3.5]

1.3 Studio di un nuovo paziente affetto da distrofia muscolare dei cingoli di tipo 8, associata a *TRIM32*.

La distrofia muscolare dei cingoli autosomica recessiva di tipo 8 (LGMDR8) è una manifestazione clinica rara, causata dalla presenza di varianti bialleliche nel gene *TRIM32*. In questo lavoro abbiamo presentato gli aspetti clinici, molecolari, istopatologici e di risonanza magnetica muscolare di un paziente di 63 anni, di origini italiane, affetto da LGMDR8, che è rimasto orfano di diagnosi per 24 anni. Grazie al sequenziamento dell'esoma clinico, abbiamo identificato due varianti missenso nel gene *TRIM32*, c.1181G > A p. (Arg394His) e c.1781G > A p. (Ser594Asp), situate rispettivamente nei domini strutturali NHL1 e NHL4 della proteina TRIM32. Per comprendere il significato di queste

varianti, abbiamo condotto una revisione della letteratura dei dati clinici e strumentali associati alle 26 varianti bialleliche di *TRIM32* finora descritte in letteratura, in 53 pazienti affetti da LGMDR8. Le varianti del probando sono state precedentemente identificate in tre pazienti indipendenti, in stato di omozigosi, pertanto, questo caso di eterozigosi composta è, ad oggi, il primo ad essere riportato. Il nostro studio fornisce, inoltre, dati aggiuntivi a favore della patogenicità di tali varianti, poiché la variante p.(Arg394His) è attualmente classificata come variante di significato incerto, mentre la variante p.(Ser594Asp) come probabilmente patogena. I risultati da noi riportati si profilano utili anche nella consulenza genetica allo scopo di velocizzare e migliorare l'accuratezza diagnostica di questa rara condizione neuromuscolare.

Rimoldi M, Romagnoli G, Magri F, Antognozzi S, Cinnante C, Sacconi E, Ciscato P, Zanotti S, Velardo D, Corti S, Comi GP and Ronchi D (2024)

“Case report: A novel patient presenting TRIM32-related limb-girdle muscular dystrophy.”

Front. Neurol. 14:1281953. doi: 10.3389/fneur.2023.1281953

1.4 Studio (trial clinico) dell'uso del farmaco Givinostat per il trattamento della Distrofia Muscolare di Becker: i risultati di uno studio di 12 mesi.

In questo studio abbiamo indagato l'uso del farmaco Givinostat per il trattamento della Distrofia Muscolare di Becker, una malattia per cui non esistono farmaci approvati. Il farmaco in questione è una deacetilasi degli istoni in grado di agire con meccanismo epigenetico. Sono stati arruolati 51 pazienti maschi con età compresa tra i 18 e i 65 anni e una diagnosi di Distrofia di Becker confermata a livello molecolare. Sono stati randomizzati tra farmaco e controllo e seguiti per un periodo di trattamento di 12 mesi. Sono stati valutati secondo parametri istologici (grado di fibrosi), radiologici (risonanza magnetica muscolare) e spettroscopici all'inizio ed alla fine dello studio. Le analisi funzionali ci hanno permesso di estendere la portata delle nostre osservazioni.

Sono 44 i pazienti che hanno completato lo studio. Non ci sono stati significativi cambiamenti tra il gruppo in trattamento e il gruppo controllo per quanto riguarda il grado di fibrosi muscolare e le valutazioni funzionali. Anche i dati di risonanza non hanno mostrato significative differenze sebbene il grado di sostituzione lipidica sia tendenzialmente più elevato nei pazienti trattati con placebo rispetto al farmaco. Gli effetti collaterali, per lo più lievi o modesti sono stati riportati in quasi il 90% dei pazienti trattati con Givinostat e nel 60% dei pazienti che hanno ricevuto il placebo. Nonostante questo studio abbia fallito l'obiettivo primario emerge qualche evidenza sulla possibilità di questo farmaco di rallentare o prevenire la progressione della malattia nei pazienti con Distrofia Muscolare di Becker.

Comi GP, Niks EH, Vandenborne K, Cinnante CM, Kan HE, Willcocks RJ, Velardo D, Magri F, Ripolone M, van Benthem JJ, van de Velde NM, Nava S, Ambrosoli L, Cazzaniga S, Bettica PU.

“Givinostat for Becker muscular dystrophy: A randomized, placebo-controlled, double-blind study.”

Front Neurol. 2023 Jan 30;14:1095121. doi: 10.3389/fneur.2023.1095121. eCollection 2023. PMID: 36793492. [IF = 4.086]

1.5 Valutazione del potenziale cognitivo nei pazienti affetti da Distrofia Muscolare di Becker

Le distrofinopatie costituiscono un gruppo eterogeneo di malattie neuromuscolari accomunate dalla presenza di mutazioni nel gene *DMD*. Differenti forme di distrofia sono espresse anche a livello della corteccia cerebrale e delle cellule di Purkinje. Sebbene disfunzioni cognitive siano già state descritte nei pazienti con Distrofia di Duchenne, poco si conosce di questo aspetto nei pazienti con il disordine allelico Distrofia Muscolare di Becker. In questo studio abbiamo colmato questa lacuna andando a valutare il profilo cognitivo in pazienti con Distrofia di Becker sottoposti ad una batteria di test neuropsicologici. La nostra ipotesi era che funzioni intenzionali e stati di coscienza come le funzioni associate alla memoria di lavoro fossero tra le più compromesse visto il prolungato stato di attivazione cellulare.

Lo studio ha coinvolto 28 pazienti con Distrofia di Becker e una età compresa tra i 18 e i 65 anni. Come soggetti controllo abbiamo selezionato 20 pazienti con Distrofia Muscolare dei Cingoli con un

quadro clinico simile. La valutazione neuropsicologica si è concentrata sulle funzionali di controllo prefrontali distinguendo i processi inibitori della attenzione selettiva e i processi attivatori della memoria di lavoro.

Una riduzione significativa della performance è stata osservata solo con la somministrazione di alcuni test che hanno dimostrato che nei soggetti con Distrofia di Becker sebbene non ci sia disabilità intellettuale clinicamente definitiva, il deficit selettivo della memoria di lavoro comporta una riduzione del potenziale intellettuale.

Pezzoni L, Brusa R, Difonzo T, Magri F, Velardo D, Corti S, Comi GP, Saetti MC.

“Cognitive abnormalities in Becker muscular dystrophy: a mysterious link between dystrophin deficiency and executive functions.”

Neurol Sci. 2023 Nov 15. doi: 10.1007/s10072-023-07169-x. Online ahead of print. PMID: 37968431. [IF = 3.2]

2) Malattie mitocondriali e metaboliche

2.1 Descrizione di una presentazione clinica mitocondriale a prevalente coinvolgimento muscolare dovuta ad una nuova variante genetica nel gene COA8

Il deficit isolato del Complesso IV (Citocromo C ossidasi o COX) della catena respiratoria mitocondriale è il secondo difetto isolato più frequente della catena respiratoria. Le mutazioni responsabili sono state identificate principalmente nelle subunità strutturali della COX o in proteine coinvolte nella maturazione ed assemblaggio dell'olocomplesso della COX. In questo lavoro abbiamo descritti due pazienti, appartenenti alla stessa famiglia, con miopatia mitocondriale causata da una variante nel gene codificante per il fattore 8 di assemblaggio della COX (COA8). Il primo paziente era una donna di 52 anni che presentava epilessia generalizzata e retinite pigmentosa all'età di 10 anni. Fin dall'adolescenza si lamentava di crampi e mialgie dopo l'esercizio fisico, ed è successivamente subentrata anche la perdita uditiva bilaterale. L'ultima visita neurologica (a 52 anni) ha evidenziato ptosi bilaterale, debolezza muscolare, neuropatia periferica, lieve disartria, disfonia e compromissione cognitiva. La biopsia muscolare inoltre aveva mostrato la presenza di fibre “ragged-red”. La sorella della paziente è una donna di 53 anni che presenta affaticabilità, mialgie e perdita uditiva. L'esame neurologico ha mostrato ptosi e debolezza muscolare, mentre la biopsia muscolare ha evidenziato una riduzione dell'attività della COX e la presenza di fibre “ragged-red”. Entrambe le sorelle presentavano anche amenorrea secondaria. Dopo l'esclusione delle mutazioni del DNA mitocondriale, l'analisi mediante Whole Exome Sequencing ha portato all'identificazione nei probandi di una nuova mutazione omozigote nel gene COA8 c.170_173dupGACC, p.(Pro59fs). In 9 individui già descritti le varianti con perdita di funzione nel medesimo gene sono state associate a una forma particolare di leucoencefalopatia con deficit di attività di COX. L'andamento della malattia ha mostrato in questi pazienti un deterioramento clinico rapido ad esordio precoce, che colpisce nel corso di mesi sia le funzioni cognitive che motorie, seguito poi da stabilizzazione e lento miglioramento nel corso di diversi anni. I nostri risultati ampliano lo spettro clinico della malattia correlata al gene COA8 e ne sottolineano un possibile decorso benigno e la significativa variabilità clinica intra-familiare.

Rimoldi M, Magri F, Antognozzi S, Ripolone M, Salani S, Piga D, Bertolasi L, Zanotti S, Ciscato P, Fortunato F, Moggio M, Corti S, Comi GP, Ronchi D.

“Prominent muscle involvement in a familial form of mitochondrial disease due to a COA8 variant.”

Front Genet. 2023 Nov 30;14:1278572. doi: 10.3389/fgene.2023.1278572. eCollection 2023. PMID: 38098475. [IF = 3.8]

2.2 Analisi mediante tecniche di sequenziamento di nuova generazione in una grande coorte di pazienti italiani con iperCKemia o sospetta malattia metabolica ereditaria

L'aumento dei valori sierici di creatina chinasi (CK) muscolare (iperCKemia) è considerata una caratteristica precipua e distintiva delle malattie neuromuscolari. Può presentarsi isolata o associata

a crampi, mialgia, debolezza, mioglobinuria o rabdomiolisi, suggerendo così una sottostante malattia metabolica.

Razionale di questo studio collaborativo era indagare le possibili cause genetiche allo scopo di agevolare la diagnosi di pazienti con ricorrente iperCKemia o sospetto clinico di malattia metabolica. A tale scopo è stata studiata una coorte di 139 soggetti (90 adulti e 49 bambini) con metodi avanzati di analisi genetica (Next Generation Sequencing) per analizzare 54 geni associati ad iperCKemia.

Una diagnosi genetica certa è stata raggiunta nel 15,1% dei casi, mentre varianti candidate o varianti di significato incerto sono state riscontrate nel 39,5% dei casi, con percentuali simili tra pazienti con esordio infantile o adulto e l'identificazione di alcuni geni causativi. *RYR1* è risultato il gene causativo più frequente, con varianti dominanti o in eterozigosi composta, mentre *ETFDH* è risultato il gene a trasmissione recessiva più frequente nella coorte. In un caso, lo studio del mRNA

ha permesso di evidenziare una larga delezione nel gene *LPIN1* non rilevata dal sequenziamento. Quanto emerso dallo studio conferma l'ampia eterogeneità genetica che complica la diagnosi dei casi di iperCKemia e miopatie metaboliche, unitamente all'esistenza di ulteriori geni associati e alla possibilità che un numero cospicuo di casi non sia in realtà a base genetica.

Invernizzi F, Izzo R, Colangelo I, Legati A, Zanetti N, Garavaglia B, Lamantea E, Peverelli L, Ardisson A, Moroni I, Maggi L, Bonanno S, Fiori L, Velardo D, Magri F, Comi GP, Ronchi D, Ghezzi D, Lamperti C.

"NGS-Based Genetic Analysis in a Cohort of Italian Patients with Suspected Inherited Myopathies and/or HyperCKemia"

Genes (Basel). 2023 Jul 2;14(7):1393. doi: 10.3390/genes14071393. PMID: 37510298 [IF = 3.5]

2.3 Identificazione di un nuovo gene malattia in una grave forma di encefalocardiomiopatia pediatrica mitocondriale

Questo studio è il risultato di uno sforzo compiuto negli ultimi due anni per la definizione di un nuovo difetto molecolare in un caso neonatale di deficit isolato di complesso IV della catena respiratoria (Citocromo c Ossidasi) caratterizzato da encefalocardiomiopatia e neuropatia sensitiva assonale. L'uso della strategia di sequenziamento dell'esoma applicato alla piccola paziente ed ai suoi genitori ci ha consentito di indentificare una mutazione nel gene *COX18*, che codifica per un fattore mitocondriale coinvolto nel processo di maturazione di una parte della catena respiratoria. Abbiamo verificato la patogenicità della variante trovata mediante studi istologici, istochimici e ultrastrutturali nel muscolo. L'attività del complesso IV della catena respiratoria è risultata gravemente ridotta sia nel muscolo che nei fibroblasti ottenuti dalla paziente. La stabilità delle subunità del Complesso IV e la capacità di assemblaggio di questo olocomplesso sono risultati parimenti compromessi. La restituzione di una copia normale del gene *COX18* alle cellule della paziente ha consentito di mitigare la disfunzione biochimica. Questo lavoro espande il repertorio di geni collegati al deficit di Citocromo c Ossidasi, che è la firma biochimica di quasi un terzo delle presentazioni cliniche mitocondriali con esordio neonatale o pediatrico. Dimostra inoltre l'importanza dell'approccio di sequenziamento di nuova generazione per la identificazione di nuovi geni malattia e la disponibilità di biopsia muscolare e colture primarie per la validazione dei dati di sequenza e la prioritizzazione delle varianti identificate.

Ronchi D, Garbellini M, Magri F, Menni F, Meneri M, Bedeschi MF, Dilella R, Cecchetti V, Picciolli I, Furlan F, Polimeni V, Salani S, Pezzoli L, Fortunato F, Bellini M, Piga D, Ripolone M, Zanotti S, Napoli L, Ciscato P, Sciacco M, Mangili G, Mosca F, Corti S, Iascone M, Comi GP

"A biallelic variant in COX18 cause isolated Complex IV deficiency associated with neonatal encephalo-cardio-myopathy and axonal sensory neuropathy."

Eur J Hum Genet. 2023 Dec;31(12):1414-1420. doi: 10.1038/s41431-023-01433-6. Epub 2023 Jul 19. PMID: 37468577 [IF = 5.3]

2.4 Neuropatia ottica ischemica come prima presentazione in un paziente con la mutazione classica associata a sindrome MELAS m.3243A >G

La sindrome da encefalomiopatia mitocondriale, acidosi lattica ed episodi simili a ictus (MELAS) è una patologia sistemica in cui può verificarsi un'alterazione del metabolismo mitocondriale, che causa disfunzioni multiorgano. Le mutazioni ereditate per via materna nel gene *MT-TL1* sono le cause più frequenti di questa malattia. Le manifestazioni cliniche possono includere episodi simili a ictus, epilessia, demenza, mal di testa e miopatia. Tra queste, la perdita visiva acuta, di solito associata a cecità corticale, può verificarsi a causa di episodi simili a ictus che interessano la corteccia occipitale o le vie visive. La perdita della vista dovuta a neuropatia ottica è anche considerata una manifestazione tipica di altre malattie mitocondriali come la neuropatia ottica ereditaria di Leber (LHON). In questo lavoro abbiamo studiato una paziente di 55 anni con una diagnosi familiare per MELAS dovuta alla mutazione m.3243A>G nel gene *MT-TL1* e con una perdita visiva dolorosa subacuta di un occhio, accompagnata da dolore muscolare prossimale e mal di testa. Nel corso delle settimane ha sviluppato una perdita della vista grave e progressiva limitata ad un occhio. L'esame oculare ha confermato un gonfiore unilaterale della testa del nervo ottico; l'angiografia con fluoresceina ha mostrato un ritardo nella perfusione del disco ottico e una fuoriuscita papillare. Gli esami del sangue e del liquido cerebrospinale, analisi di neuroimaging, nonché una biopsia dell'arteria temporale, hanno escluso disturbi neuroinfiammatori e l'arterite a cellule giganti (GCA). L'analisi di sequenziamento del DNA mitocondriale ha confermato la transizione m.3243A>G e ha escluso le tre mutazioni più comuni della LHON, nonché la mutazione m.3376G>A associata alla sindrome di sovrapposizione LHON/MELAS. Sulla base della combinazione dei sintomi e segni clinici presentati dalla nostra paziente, compreso il coinvolgimento muscolare, e dei risultati delle indagini, si è giunti alla diagnosi di una neuropatia ottica causata da un evento simile a ictus che ha colpito il disco ottico. Le terapie con L-arginina e ubidecarenone sono state avviate con l'obiettivo di migliorare i sintomi dell'episodio simil-ictus e prevenirne l'insorgenza. In questo modo il difetto visivo è rimasto stabile senza ulteriore progressione o insorgenza di nuovi sintomi. In conclusione, le presentazioni cliniche atipiche devono essere sempre considerate nelle malattie mitocondriali, anche nei fenotipi ben descritti e quando il carico mutazionale nei tessuti periferici è basso. Infatti, la segregazione mitotica del DNA mitocondriale non consente di conoscere l'esatto grado di eteroplasmia presente nei diversi tessuti, come la retina e il nervo ottico. Il nostro studio evidenzia come una corretta diagnosi di queste presentazioni atipiche sia di fondamentale importanza per la gestione terapeutica nel campo delle malattie mitocondriali.

Scarcella S, Dell'Arti L, Gagliardi D, Magri F, Govoni A, Velardo D, Mainetti C, Minorini V, Ronchi D, Piga D, Comi GP, Corti S, Meneri M.

“Ischemic optic neuropathy as first presentation in patient with m.3243 A > G MELAS classic mutation.”

BMC Neurol. 2023 Apr 24;23(1):165. doi: 10.1186/s12883-023-03198-3. PMID: 37095452 [IF = 2.9]

2.5 Analisi delle caratteristiche clinico-patologiche e molecolari in un'ampia coorte di pazienti adulti affetti da malattia da alterata omeostasi del DNA mitocondriale

Le patologie con alterata omeostasi del DNA mitocondriale comprendono un gruppo eterogeneo di presentazioni cliniche che vanno dalle sindromi infantili e pediatriche alle forme miopatiche (con o senza coinvolgimento extra-muscolare) ad esordio tardivo. Dato che le mutazioni causative si ritrovano in geni nucleari che codificano per fattori cruciali nella replicazione e nella riparazione del DNA mitocondriale, queste malattie sono ereditate come tratti Mendeliani.

Il nostro Centro è un punto di riferimento per l'analisi di queste patologie e in questo studio retrospettivo abbiamo voluto rivedere i dati clinici, istologici e molecolari di una coorte di 152 pazienti adulti (con equa distribuzione tra maschi e femmine) valutati nel nostro Centro negli ultimi 30 anni. Un preminente coinvolgimento muscolare è stato confermato dalla presenza di ptosi palpebrale, debolezza muscolare e oftalmoplegia progressiva nel 67%, 60% e 51% dei pazienti della coorte, rispettivamente. La neuropatia periferica è stata osservata nel 20% dei casi. Sordità, disfagia e disfonia o rinolalia sono stati riportati nel 20%, 18% e 15% dei pazienti rispettivamente. Il ritardo

mentale e segni di demenza così come il coinvolgimento del cervelletto e delle vie extrapiramidali sono anche state osservate. L'accumulo di delezioni multiple del DNA mitocondriale è stato documentato in 134 campioni di biopsia muscolare usando almeno due tecniche molecolari indipendenti. Segni di disfunzione mitocondriale sono emersi dall'analisi istologica e istochimica di tutti i campioni biopsici analizzati. Una diagnosi molecolare è stata ottenuta in 109 pazienti (72% della coorte) provenienti da 86 famiglie indipendenti. I geni più rappresentativi sono POLG (37%), TWNK (19%) e ANT1 (12%) seguiti dai geni del metabolismo dei dNTPs (TK2, DGUOK, TYMP) che sono stati identificati mutati in 13 casi. I geni identificati negli ultimi 10 anni (DNA2, MGME1, RNASEH1, ENDOG) incrementano la frazione diagnostica del 13%. Nel complesso il nostro studio espande la conoscenza di questo gruppo di malattie mitocondriali.

2.6 Uso di RNA messaggero come strategia terapeutica per due gravi malattie pediatriche mitocondriali: dalla vaccinazione di COVID-19 allo sviluppo di terapie innovative per le malattie metaboliche ereditarie rare.

Questo progetto di ricerca, finanziato anche grazie ai fondi del PNRR, vuole valutare lo sviluppo di una nuova strategia terapeutica in vitro ed in vivo nel campo delle encefalo-epato-miopatie mitocondriali pediatriche. L'agente terapeutico prevede la somministrazione dei geni assenti in queste forme di malattia mitocondriale, *MPV17* e *SURF1*, sottoforma di RNA messaggero nudo o incapsulato in particelle nano lipidiche per incrementarne l'emivita. Il nostro obiettivo è valutare se questa strategia terapeutica possa essere efficace per correggere i difetti mitocondriali riscontrati nei modelli cellulari ottenuti da pazienti con difetti molecolari nei geni *MPV17* e *SURF1*, in modelli cellulari pazienti-specifici derivati e in modelli animali (un modello murino knockout per il gene *Mpv17* e un modello suino, minipig, knockout per il gene *Surf1*).

Il deficit di *MPV17* (MDDS, type 6 – OMIM 256810) provoca una grave forma pediatrica di sindrome epatocerebrale con deplezione del DNA mitocondriale. Questa patologia si caratterizza per una grave insufficienza epatica ed un coinvolgimento sia del sistema nervoso centrale (es. degenerazione cerebellare) che periferico (grave neuropatia sensitiva e motoria). L'esito è fatale entro i primi 2 anni di vita. La nostra strategia terapeutica dovrebbe essere in grado di correggere il problema nel principale organo bersaglio (il fegato) visto che dati in letteratura indicano un forte tropismo epatico per gli RNA messaggeri somministrati in modo sistemico. Abbiamo già ottenuto e caratterizzato a livello di DNA, RNA, proteine e funzionalità mitocondriale le linee cellulari (fibroblasti) di 3 pazienti con mutazioni bialleliche nel gene *MPV17*. Insieme a cellule controllo questi strumenti saranno il nostro banco di prova per la correzione in vitro della patologia e delle sue conseguenze biochimiche. Stiamo ottimizzando i protocolli di trasfezione utilizzando RNA messaggero in grado di codificare per la proteina fluorescente GFP ottenuto dopo trascrizione in vitro in presenza di opportune modifiche per incrementarne la stabilità e l'efficienza di traduzione. Per la parte in vivo un modello knockout murino è stato precedentemente generato dal laboratorio di Carlo Viscomi (Università di Padova, consulente di questo progetto). In questo modello andremo a valutare la degradazione delle particelle nanolipidiche, l'emivita e la localizzazione dell'RNA messaggero e la sua capacità di codifica e di cross-complementazione in tessuti in cui è stata prodotta artificialmente l'ablazione del gene endogeno murino). Abbiamo attualmente finalizzato la sottomissione dei documenti autorizzativi per il trasferimento del modello murino *MPV17-KO* presso il nostro stabulario.

Il deficit di *SURF1* (LS due to COX deficiency – OMIM 220110) porta alla impossibilità di sintetizzare un olocomplexo funzionale del Complesso IV (citocromo c ossidasi) della catena respiratoria. Questo difetto biochimico sta alla base del 15% dei pazienti con Sindrome di Leigh con un grave difetto nella COX. Questa forma di sindrome di Leigh è molto eterogenea ma è sempre caratterizzata dalla degenerazione di specifiche aree nei gangli della base. L'età media di morte dei bambini affetti è di circa 5 anni. Anche in questi casi, l'uso di RNA messaggero come agente terapeutico può essere una buona soluzione vista la ridotta immunogenicità e genotossicità del protocollo e il rapido instaurarsi della azione terapeutica. Se verificati, questi aspetti potrebbero essere decisivi per superare i limiti dimostrati nella terapia genica "tradizionale" mediata da vettori virali

con particelle AAV. Anche per la parte del progetto relativa a SURF1 abbiamo ottenuto e caratterizzato 3 linee cellulari ottenute da pazienti con Sindrome di Leigh. La caratterizzazione funzionale ha anche incluso l'analisi biochimica della catena respiratoria, la stabilità delle subunità della Citocromo c Ossidasi e il processo di assemblaggio del Complesso IV. Per la parte in vivo utilizzeremo un modello sviluppato da Dario Brunetti (ricercatore presso l'Università di Milano e l'Istituto Neurologico Carlo Besta) che consiste in un modello di *minipig* knockout che ricapitola il fenotipo clinico umano e mostra una simile firma biochimica. Nello specifico andremo a valutare la biodistribuzione delle nanoparticelle lipidiche in vivo e verificheremo l'efficacia della complementazione con RNA messaggero per *SURF1* mediante analisi della sopravvivenza e il miglioramento delle caratteristiche patologiche osservate nel modello suino.

3) Malattie Neurodegenerative

3.1 Amiotrofia Spinale

3.1.1 Analisi delle presentazioni cliniche in pazienti con Amiotrofia Spinale Muscolare portatori di 4 copie del gene *SMN2*

Questo studio ha valutato le presentazioni cliniche associate a 169 pazienti con Amiotrofia Spinale Muscolare (SMA) portatori di 4 copie del gene *SMN2* reclutati presso i principali centri italiani di riferimento per questa patologia. La rivalutazione dei casi ha permesso di definire 6 pazienti presintomatici, 8 pazienti con SMA di tipo II, 145 con SMA di tipo III (IIIa e IIIb) e 8 con SMA di tipo IV. Due pazienti sono adulti asintomatici indetificati in quanto familiari di soggetti affetti. Un terzo dei pazienti di tipo III e un quarto dei pazienti di tipo IV hanno perso la capacità di camminare. Il rischio di perdere la deambulazione è associato al tipo di SMA (i pazienti IIIb e IV hanno un rischio inferiore rispetto ai IIIa) e sembra inferiore nelle donne rispetto agli uomini (la correlazione con l'età non si osserva nella popolazione pediatrica). Nel complesso i nostri dati confermano l'eterogeneità delle presentazioni cliniche dei casi (non trattati) di SMA con 4 copie di *SMN2* e confermano una riduzione delle performance funzionali con l'età. Questi dati sono di significativa importanza per la conoscenza della storia naturale della malattia in questo gruppo di pazienti e sottolineano in particolare che anche i portatori di 4 copie del gene *SMN2* possono sviluppare forme di SMA con significativa morbidità.

Ricci M, Cicala G, Capasso A, Coratti G, Fiori S, Cutrona C, D'Amico A, Sansone VA, Bruno C, Messina S, Mongini T, Coccia M, Siciliano G, Pegoraro E, Masson R, Filosto M, Comi GP, Corti S, Ronchi D, Maggi L, D'Angelo MG, Vacchiano V, Ticci C, Ruggiero L, Verriello L, Ricci FS, Berardinelli AL, Maioli MA, Garibaldi M, Nigro V, Previtali SC, Pera MC, Tizzano E, Pane M, Tiziano FD, Mercuri E; ITASMAC Working Group

"Clinical Phenotype of Pediatric and Adult Patients With Spinal Muscular Atrophy With Four SMN2 Copies: Are They Really All Stable?"

Ann Neurol. 2023 Dec;94(6):1126-1135. doi: 10.1002/ana.26788. Epub 2023 Sep 22. PMID: 37695206 [IF = 11.274]

3.1.2 Valutazione della sicurezza, della tollerabilità e della farmacocinetica del farmaco Risdiplam in pazienti con Amiotrofia Spinale (SMA) precedentemente sottoposti ad altri trattamenti terapeutici

Risdiplam è un trattamento per l'atrofia muscolare spinale (SMA) che agisce mediante la modifica dello splicing del gene *survival of motor neuron 2 (SMN2)*. JEWELFISH (NCT03032172) è uno studio di sicurezza, tollerabilità, farmacocinetica (PK) e farmacodinamica (PD) dei pazienti, sia adulti che bambini, affetti da SMA trattati in precedenza con altri farmaci. Le analisi sono state effettuate dopo avere somministrato in un anno la terapia con risdiplam.

Sono stati arruolati nello studio pazienti con diagnosi di SMA (confermata geneticamente), con età compresa tra i 6 mesi e i 60 anni. I pazienti erano arruolati precedentemente nello studio MOONFISH (NCT02240355) trattati con modificatori dello splicing RG7800 o trattati con terapia farmacologica,

molecolari o di terapia genica alternativi (olexosima, nusinersen, o onasemnogene abeparvovec. L'obiettivo primario dello studio JEWELFISH era di valutare la sicurezza e tollerabilità del risdiplam e valutare il PK dopo 2 anni di trattamento. Nello studio sono stati arruolati 174 pazienti così raggruppati: studio MOONFISH (n = 13), olesoxime (n = 71 pazienti), nusinersen (n = 76), onasemnogene abeparvovec (n = 14). La maggior parte dei pazienti aveva tre copie di SMN2 (78%). L'età e il peso medio nel momento dell'arruolamento erano di 14 anni (1-60 anni) e 39.1 kg (9.2-108.9 kg), rispettivamente. Circa 63% dei pazienti aveva un'età compresa da 2 a 60 anni, l'83% presentavano scoliosi ed uno punteggio iniziale di Hammersmith Functional Motor Scale-Expanded più basso di 10. L'evento avverso (AE) più comune è stata l'infezione delle vie aeree superiori e febbre (30 pazienti; 17%) mentre l'AE più grave (SAE) è stato la polmonite (4 pazienti; 2%). La frequenza sia dei AEs che dei SAEs per 100 pazienti-annui era più bassa nel secondo semestre confrontata con il primo. Un incremento del livello di proteina SMN nel sangue è stato evidenziato nei pazienti trattati con risdiplam comparabile sia per fascia di età sia per peso.

La sicurezza e la PD della terapia con risdiplam in pazienti trattati precedentemente con altri farmaci è sovrapponibile a quelli naïve a trattamenti pregressi.

Chiriboga CA, Bruno C, Duong T, Fischer D, Mercuri E, Kirschner J, Kostera-Pruszczyk A, Jaber B, Gorni K, Kletzl H, Carruthers I, Martin C, Warren F, Scalco RS, Wagner KR, Muntoni F; JEWELFISH Study Group.

"Risdiplam in Patients Previously Treated with Other Therapies for Spinal Muscular Atrophy: An Interim Analysis from the JEWELFISH Study."

Neurol Ther. 2023 Apr;12(2):543-557. doi: 10.1007/s40120-023-00444-1. Epub 2023 Feb 13. PMID: 36780114 [IF = 4.446]

3.1.3 Studio della funzionalità respiratoria in un gruppo di pazienti con Amiotrofia Spinale che non hanno ricevuto trattamenti terapeutici

A causa della scarsità di dati in letteratura, ci siamo proposti di indagare la funzione respiratoria in un'ampia coorte di pazienti italiani adulti naïve (≥ 18 anni) affetti da SMA in uno studio trasversale multicentrico. Sono stati valutati i seguenti parametri respiratori: capacità vitale forzata (FVC), volume espiratorio forzato in un secondo (FEV1) e necessità di ventilazione non invasiva (NIV).

In questo studio abbiamo incluso 145 pazienti adulti naïve al trattamento (SMA2 = 18, SMA3 = 125; SMA4 = 2), 58 femmine (40 %), con un'età media alla valutazione di 37 anni (range 18-72). Cinquantasei (37 %) e 41 (31 %) pazienti presentavano valori anormali (< 80 %) di FVC e FEV1, rispettivamente. Quattordici (14%) pazienti hanno avuto bisogno di NIV, intrapresa dall'età media di 21 anni (range 4-68). La funzione motoria, misurata con la Hammersmith Functional Motor Scale Expanded e il Revised Upper Limb Module come anche la SMA2, la perdita della capacità di camminare, l'intervento chirurgico per la scoliosi, l'uso della NIV e del dispositivo di assistenza alla tosse (CAD) sono stati tutti significativamente associati a valori più bassi di FVC e FEV1, mentre non è stata osservata alcuna associazione con l'età, la durata della malattia, il genere o il test del cammino per 6 minuti, ad eccezione di una correlazione tra FVC ed età nei camminatori SMA3 ($p < 0,05$).

La funzione respiratoria nei pazienti SMA adulti è relativamente frequentemente compromessa, sostanzialmente stabile e significativamente correlata alla funzione motoria e alla gravità della malattia.

Vicino A, Bello L, Bonanno S, Govoni A, Cerri F, Ferraro M, Capece G, Gadaleta G, Meneri M, Vacchiano V, Ricci G, D'Errico E, Tramacere I, Banfi P, Bortolani S, Zanin R, Maioli MA, Silvestrini M, Previtali SC, Berardinelli A, Turri M, Coccia M, Mantegazza R, Liguori R, Filosto M, Siciliano G, Simone IL, Mongini T, Comi G, Pegoraro E, Maggi L.

"Respiratory function in a large cohort of treatment-naïve adult spinal muscular atrophy patients: a cross-sectional study."

Neuromuscul Disord. 2023 Dec;33(12):911-916. doi: 10.1016/j.nmd.2023.10.002. Epub 2023 Oct 12. PMID: 37945485 [IF = 3.538]

3.1.4 Uso della proteomica e della metabolomica per identificare nuovi biomarcatori nei fluidi biologici dei pazienti SMA: nuovi strumenti per il monitoraggio della risposta alla terapia

L'Atrofia Muscolare Spinale (SMA) è una malattia neuromuscolare causata da mutazioni o delezioni nel gene *SMN1* e comporta la perdita progressiva dei motoneuroni alfa, il che causa debolezza muscolare e atrofia grave e porta a decesso prematuro se non trattata. La recente approvazione di terapie volte ad aumentare la quantità di proteina SMN disponibile ha cambiato le prospettive terapeutiche e di vita.

Si è reso quindi necessario identificare biomarker affidabili per stabilire il grado di severità della malattia, la prognosi, la risposta ai trattamenti e l'efficacia degli stessi.

Questo lavoro costituisce una revisione critica delle nuove metodiche di -omica che potrebbero diventare utili strumenti clinici per i pazienti SMA. Infatti, proteomica e metabolomica permettono di penetrare nei meccanismi molecolari che caratterizzano la fase di progressione della malattia e le risposte ai trattamenti. Analisi massive di dati sui pazienti hanno evidenziato profili differenti tra questi e i controlli normali, e tra pazienti responsivi ai trattamenti e non responsivi. I vari studi includono necessariamente un numero ristretto di pazienti, ma sono comunque strumenti preziosi e imprescindibili per chiarire la patogenesi e il corso complessivo della malattia, oltre ai meccanismi alla base della risposta al trattamento.

Meneri M, Abati E, Gagliardi D, Faravelli I, Parente V, Ratti A, Verde F, Ticozzi N, Comi GP, Ottoboni L, Corti S

"Identification of Novel Biomarkers of Spinal Muscular Atrophy and Therapeutic Response by Proteomic and Metabolomic Profiling of Human Biological Fluid Samples."

Biomedicines. 2023 Apr 23;11(5):1254. doi: 10.3390/biomedicines11051254. PMID: 37238925 [IF = 4.7]

3.1.5 La terapia genica nella SMA: valutazione dei predittori e della sicurezza in pazienti naive o già sottoposti a trattamento con altri farmaci

La sicurezza e l'efficacia della terapia genica per i pazienti con amiotrofia spinale prima dei sette mesi di vita e sotto il peso di 8,5 chilogrammi è già stata dimostrata in trial clinici. Questo studio ha voluto valutare l'impatto di questa terapia in categorie di pazienti con intervalli di età e di peso più ampi, compresi quelli precedentemente trattati con altri farmaci. I pazienti reclutati in questo studio durato 27 mesi sono stati 46 a cui si aggiungono altri 21 pazienti per cui erano disponibili dati sulla sicurezza del trattamento. In circa un terzo dei pazienti, non era stato effettuato alcun trattamento prima della terapia genica. La valutazione del trattamento mediante i cambiamenti nella scala CHOP-INTEND ha dato riscontri variabili. Un migliore predittore è stato l'età al trattamento e il punteggio iniziale al reclutamento. I cambiamenti nella scala CHOP-INTEND sono risultati significativi già 3 mesi dopo la somministrazione della terapia e a più di 12 mesi nel gruppo di pazienti trattati dopo i due anni di età. Eventi avversi sono stati registrati in un significativo numero di pazienti (51 su 67). Il rischio di incremento delle transaminasi era maggiore nei pazienti di età maggiore e apparentemente anche in relazione al peso e al fatto di aver precedentemente ricevuto una terapia con Nusinersen anche se una analisi successiva ha dimostrato un effetto statisticamente significativo solo sulla base dell'età.

Questo studio è importante perché fornisce dati di sicurezza ed efficacia per una migliore scelta del trattamento nei pazienti con amiotrofia spinale da sottoporre a terapia genica.

Pane M, Berti B, Capasso A, Coratti G, Varone A, D'Amico A, Messina S, Masson R, Sansone VA, Donati MA, Agosto C, Bruno C, Ricci F, Pini A, Gagliardi D, Filosto M, Corti S, Leone D, Palermo C, Onesimo R, De Sanctis R, Ricci M, Bitetti I, Sframeli M, Dosi C, Albamonte E, Ticci C, Brolatti N, Bertini E, Finkel R, Mercuri E; ITASMAc group.

“Onasemnogene abeparvovec in spinal muscular atrophy: predictors of efficacy and safety in naïve patients with spinal muscular atrophy and following switch from other therapies.”
EClinicalMedicine. 2023 May 5;59:101997. doi: 10.1016/j.eclinm.2023.101997. eCollection 2023 May. PMID: 37197706 [IF = 15.1]

3.1.6 Proposta per un nuovo protocollo clinico per valutare l'affaticabilità nei pazienti adulti affetti da Amiotrofia Spinale Muscolare (SMA)

L'amiotrofia spinale è una malattia genetica neuromuscolare del secondo motoneurone che comporta un significativo peggioramento delle capacità motorie e della qualità motoria nei pazienti con una grande variabilità nella espressione fenotipica. Mentre nuove opzioni terapeutiche sono state sviluppate negli ultimi anni, strumenti clinici e misure di outcome più precise sono necessarie, specialmente nella popolazione adulta di pazienti sottoposti a trattamenti e nei quali la risposta clinica è spesso riferita ad un lieve miglioramento dei sintomi o una stabilizzazione della progressione della malattia. In questo studio abbiamo descritto una nuova scala motoria funzionale disegnata per valutare la dimensione della resistenza nelle capacità motorie degli arti superiori e inferiori nei pazienti adulti affetti da SMA.

Abbiamo inizialmente provato ad usare questa scala in 8 soggetti controllo e poi l'abbiamo validata su 10 adulti con SMA mostrando una buona affidabilità e riproducibilità intra-osservazione e inter-osservazione. Abbiamo anche messo a punto un protocollo di valutazione usando strumenti indossabili che includono elettromiografi di superficie e accelerometri. La valutazione della resistenza dovrebbe integrare il monitoraggio standard nella gestione e nel follow up dei pazienti adulti affetti da SMA.

Ricci G, Torri F, Govoni A, Chiappini R, Manca L, Vadi G, Roccella S, Magri F, Meneri M, Fassini F, Vacchiano V, Tomassini S, Gironella N, Coccia M, Comi G, Liguori R, Siciliano G.

“Proposal of a new clinical protocol for evaluating fatigability in adult SMA patients.”

Acta Myol. 2023 Sep 30;42(2-3):65-70. doi: 10.36185/2532-1900-330. eCollection 2023. PMID: 38090548 [IF = 2.13]

3.2 Aspetti genetici della Sclerosi Laterale Amiotrofica

Le moderne tecniche di indagine genetica hanno dato negli ultimi anni un grosso impulso nella comprensione di vari meccanismi nella eziopatogenesi di molte malattie neurologiche. La Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA) è una malattia neurodegenerativa caratterizzata da una perdita progressiva di motoneuroni che porta a paralisi e morte. I principali geni malattia per frequenza e per conoscenze scientifiche sono SOD1, TARDBP, FUS e C9ORF72. Le cause della SLA sono in gran parte sconosciute, sebbene siano stati identificati recentemente, grazie alla diffusione delle nuove tecnologie di screening massivo, diversi geni causativi: in letteratura sono stati infatti descritti oltre 30 geni con rarissime mutazioni causative che si associano a casi di SLA. Nel novembre 2011 l'evidenza tra la presenza dell'espansione intronica nel gene C9orf72 e lo sviluppo della malattia ha cambiato lo scenario fino ad allora conosciuto. Circa il 90% delle forme di SLA sono di tipo sporadico (SALS) e senza alcuna eziologia nota. Le forme familiari (FALS) rappresentano circa il 5%-10% dei casi e sono molto eterogenee dal punto di vista genetico. I meccanismi genetici coinvolti nella SLA sono probabilmente più complessi di quanto inizialmente ipotizzato. Si rende quanto mai necessaria una conoscenza approfondita delle componenti genetiche della SLA per indagare i processi che portano allo sviluppo della malattia e per fornire nello stesso tempo nuovi bersagli terapeutici molecolari.

L'attività di ricerca è stata volta a caratterizzare geneticamente un'ampia coorte di pazienti affetti da Sclerosi Laterale Amiotrofica reclutati presso l'ambulatorio malattie del motoneurone afferente all'Unità di Neurologia dipartimento di Fisiopatologia Medico-Chirurgica e dei Trapianti dell'Università degli Studi di Milano. Il Dipartimento rappresenta un centro di riferimento italiano per la diagnosi e il trattamento delle malattie del motoneurone.

3.2.1 Analisi dei dati clinici e molecolari in una coorte di pazienti con Sclerosi Laterale Amiotrofica dovuta a mutazioni nel gene *SOD1* e afferenti al nostro Centro

Il gene *SOD1* rappresenta il primo gene in ordine temporale descritto in pazienti affetti da Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA) familiare e/o sporadica. A tutt'oggi sono state individuate oltre 150 mutazioni sul gene *SOD1*; le mutazioni localizzano su tutti i 5 esoni che compongono il gene, non vi sono degli hot-spot mutazionali anche se alcune varianti risultano essere più frequenti di altre; tuttavia, dato l'elevato grado di eterogeneità clinica e molecolare che caratterizza i soggetti SLA, per capire il decorso naturale della malattia diventa cruciale avere una caratterizzazione dettagliata delle varie mutazioni che vengono individuate. Per questo motivo in questo studio abbiamo condotto un'analisi retrospettiva atta ad individuare le caratteristiche cliniche e fenotipiche dei pazienti SLA afferenti al nostro centro tra il 2008 e il 2021. La coorte include un totale di 576 pazienti, dei quali 19 individui (corrispondente al 3.3% del totale) presentano una mutazione sul gene *SOD1*. Tra questi, quindici soggetti (79%) sono affetti da SLA familiare, i restanti quattro (21%) sono affetti da SLA sporadica. Tutti i pazienti *SOD1* positivi non presentano mutazioni negli altri tre geni malattia principali (*C9ORF72*, *TARDBP* e *FUS*). I risultati dello studio hanno evidenziato come la malattia ha insorgenza a livello spinale in tutti i soggetti mutati; tuttavia, l'età di insorgenza è altamente variabile (range: da 18 a 74 anni), così come la durata della malattia (range: da 8 mesi a oltre 30 anni). Nel corso della malattia sei pazienti hanno sviluppato sintomi bulbari, importanti deficit respiratori sono stati osservati in sei pazienti. Nella nostra coorte di pazienti sono state individuate un totale di 12 mutazioni missenso lungo tutto il gene *SOD1*, di cui una non ancora riportata in letteratura e pertanto definita come “*novel*” (p.Pro67Leu). Il nostro studio monocentrico descrive dettagliatamente le caratteristiche cliniche e fenotipiche dei pazienti *SOD1* positivi, evidenziando importanti aspetti quali la presenza di tratti clinici atipici (atassia, decadimento cognitivo, altri sintomi extramotori), la variabilità fenotipica della mutazione all'interno della stessa famiglia. Alla luce della recente autorizzazione per l'utilizzo terapeutico di oligonucleotidi antisense-*SOD1*, i dati ottenuti da questo studio sottolineano la necessità di un rapido screening per mutazioni *SOD1* in tutti i nuovi pazienti affetti da SLA.

Gagliardi D, Ripellino P, Meneri M, Del Bo R, Antognozzi S, Comi GP, Gobbi C, Ratti A, Ticozzi N, Silani V, Ronchi D, Corti S.

“Clinical and molecular features of patients with amyotrophic lateral sclerosis and SOD1 mutations: a monocentric study.”

Front Neurol. 2023 May 17;14:1169689. doi: 10.3389/fneur.2023.1169689. eCollection 2023. PMID: 37265463 [IF = 4.086]

3.2.2 L'espansione del gene *NOTCH2NLC* non rappresenta una frequente causa di malattia in una coorte di pazienti italiani affetti da Sclerosi Laterale Amiotrofica.

Negli ultimi anni l'attenzione dei ricercatori si è concentrata sulle mutazioni genetiche da espansione. Le malattie da espansione rappresentano attualmente un importante capitolo di ricerca e di indagine non solo in campo neurodegenerativo. Oltre a *C9ORF72*, sono stati presi in considerazione in ambito motoneuronale le espansioni di geni coinvolti in altri processi neurodegenerativi quali *ATXN2* e, soprattutto *NOTCH2NLC*. L'espansione di questo gene è stata recentissimamente associata a casi di Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA) in una coorte di pazienti cinesi; lo stesso risultato non è stato successivamente confermato in altre coorti di pazienti di diversa etnia e di diverso background genetico.

Pertanto, in questo studio abbiamo voluto valutare il possibile impatto dell'espansione GGC del gene *NOTCH2NLC* nella nostra coorte di pazienti italiani affetti da SLA. Lo screening è stato condotto mediante la tecnica di reazione della polimerasi repeat-primed in 385 pazienti affetti da SLA probabile o certa. L'età media dei pazienti era pari a 60.5 anni al momento del prelievo, il 61% era rappresentato da pazienti di sesso maschile. I soggetti classificati come sporadici rappresentavano il 92.7% dei casi indagati, il restante 7.3% erano casi familiari. L'espansione GGC del gene *NOTCH2NLC* localizza nella regione 5'UTR. Il numero di ripetizioni osservate nella nostra coorte è

risultato compreso tra 11 e 35 GGC (la maggior parte dei pazienti è caratterizzato dal possedere un numero di ripetizioni compreso tra 19 e 23). Nello studio cinese il range di patogenicità era compreso tra le 96 e 143 ripetizioni. Nessuno dei nostri pazienti ha mostrato il tipico pattern associato ad un'espansione patologica, di fatto escludendo un ruolo del gene *NOTCH2NLC* nella patogenesi della SLA. Successivamente i dati ottenuti nella nostra casistica sono stati confrontati con i dati presenti in letteratura relativi ad altre patologie neurodegenerative quali Malattia di Parkinson, Atassia spinocerebellare, Malattia di Alzheimer, Demenza Frontotemporale, etc. Non sono emerse differenze significative in termini di numero di espansioni osservate.

Il nostro lavoro rappresenta il primo studio condotto su una popolazione europea nell'ambito della relazione tra il gene *NOTCH2NLC* e la SLA. Ulteriori studi sono comunque necessari per validare questo risultato.

Manini A, Gagliardi D, Meneri M, Antognozzi S, Del Bo R, Comi GP, Corti S, Ronchi D
“*NOTCH2NLC GGC repeats are not expanded in Italian amyotrophic lateral sclerosis patients.*”
Sci Rep. 2023 Feb 23;13(1):3187. doi: 10.1038/s41598-023-30393-6. PMID: 36823368 [IF = 4.6]

3.2.3 Analisi del pattern di espansione regionale e relazione alla presentazione clinica nella Sclerosi Laterale Amiotrofica

La sclerosi laterale amiotrofica (SLA) è una patologia neurodegenerativa causata dalla perdita dei motoneuroni. Numerose evidenze scientifiche mostrano come la diffusione a livello anatomico della SLA segua dei pattern preferenziali in cui vengono coinvolte più frequentemente le regioni contigue al sito di esordio. Lo scopo di questo studio è stato verificare se: 1) il grado del coinvolgimento dei motoneuroni superiori (UMN) e inferiori (LMN) influenza la direzionalità della diffusione della malattia; 2) modelli specifici di progressione della malattia sono associati alle caratteristiche motorie e neuropsicologiche dei diversi sottotipi di SLA (sclerosi laterale classica, bulbare, primaria, UMN predominante, atrofia muscolare progressiva, flail arm, flail leg); caratteristiche cliniche specifiche possano aiutare a identificare i sottotipi di SLA, che rimangono localizzati nel sito di insorgenza per un tempo prolungato (SLA radicata a livello regionale). Una coorte monocentrica di 913 pazienti italiani con SLA è stata studiata retrospettivamente per valutare le correlazioni tra la direzionalità del processo patologico dopo l'insorgenza dei sintomi e il fenotipo motorio/neuropsicologico. Tutti i pazienti sono stati sottoposti ad una valutazione approfondita comprendente le seguenti scale cliniche: Penn Upper Motor Neuron Score (PUMNS), MRC Scale for Muscle Strength e Edinburgh Cognitive and Behavioural ALS Screen (ECAS). Il modello di diffusione iniziale più frequente è stato quello verso le regioni orizzontali adiacenti (77,3%), che si è verificato preferenzialmente nei pazienti con punteggi MRC più bassi ($P = 0.038$), mentre la diffusione verticale (21.1%) è stata associata a PUMNS più alti ($P < 0.001$) e a ridotta sopravvivenza ($P < 0.001$). La diffusione della malattia a zone non contigue è stata associata a una compromissione più grave dei motoneuroni superiori ($P = 0.003$), mentre la diffusione contigua della malattia è stata associata a punteggi MRC più bassi. Inoltre, la diffusione non contigua della malattia è stata associata a un deterioramento cognitivo più grave sia nei domini ECAS esecutivi che visuospatiali. Gli individui affetti da SLA radicata a livello regionale erano più frequentemente di sesso femminile (45.6% versus 36.9%; $P = 0.028$), avevano percentuali più alte di esordio di malattia simmetrico (40.3% versus 19.7%; $P < 0.001$) e avevano un fenotipo bulbare (38.5% versus 16.4%; $P < 0.001$). Il nostro studio suggerisce che i fenotipi motori caratterizzati da un coinvolgimento predominante dei motoneuroni superiori sono associati ad un modello verticale di progressione della malattia che riflette la diffusione ipsilaterale all'interno della corteccia motoria, mentre quelli con un coinvolgimento predominante dei motoneuroni inferiori mostrano più frequentemente una diffusione orizzontale da un lato del midollo spinale all'altro. Queste osservazioni sollevano l'ipotesi che uno dei meccanismi alla base della diffusione della malattia nella SLA sia rappresentato dalla diffusione di fattori tossici nel microambiente neuronale. Infine, è possibile che nella nostra coorte, forme di SLA radicate a livello regionale siano osservate principalmente in pazienti con fenotipi bulbari atipici, caratterizzati da un decorso lentamente progressivo e da una prognosi relativamente benigna.

Maranzano A, Verde F, Colombo E, Poletti B, Doretti A, Bonetti R, Gagliardi D, Meneri M, Maderna L, Messina S, Corti S, Morelli C, Silani V, Ticozzi N.

“Regional spreading pattern is associated with clinical phenotype in amyotrophic lateral sclerosis.”
Brain. 2023 Oct 3;146(10):4105-4116. doi: 10.1093/brain/awad129. PMID: 37075222. [IF = 14.5]

3.2.4 Il coinvolgimento del primo e secondo motoneurone sulle caratteristiche cliniche, la progressione e la prognosi della Sclerosi Laterale Amiotrofica

Nella Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA) sia i motoneuroni superiori (UMN) che quelli inferiori (LMN) sono coinvolti nel processo di neurodegenerazione. Abbiamo valutato le associazioni del carico di compromissione degli UMN, valutato attraverso il Penn Upper Motor Neuron Score (PUMNS), con le caratteristiche demografiche e cliniche dei pazienti affetti da SLA per definire il ruolo indipendente del coinvolgimento degli UMN nel generare l'eterogeneità della malattia, nel predire la progressione della malattia e la prognosi.

Abbiamo raccolto i seguenti parametri clinici su una coorte di 875 pazienti affetti da SLA: età e sede di insorgenza, sopravvivenza, scala MRC, punteggio del motoneurone inferiore (LMNS), PUMNS, ALSFRS-R, variazione dell'ALSFRS-R nel tempo (DFS), sistemi di stadiazione MITOS e King (KSS). Su un sottogruppo di pazienti è stata eseguita la stimolazione magnetica transcranica e sono stati calcolati il tempo di conduzione motoria centrale (CMCT) e il periodo silente corticale (CSP).

Abbiamo osservato che i pazienti con un'età di insorgenza più precoce e con un esordio bulbare avevano valori di PUMNS più elevati. Valori più elevati erano anche associati a punteggi ALSFRS-R e DFS più bassi, nonché a MITOS e KSS più elevati, a indicare che un maggiore danno dei UMN è correlato alla gravità della malattia. Al contrario, non abbiamo riscontrato alcuna associazione tra il coinvolgimento delle UMN e la sopravvivenza o i marcatori di compromissione delle LMN. Inoltre, i valori di PUMNS hanno mostrato un'associazione positiva con la CMCT e negativa con i valori di CSP.

I nostri risultati suggeriscono che il carico di patologia UMN, valutato attraverso il PUMNS, ha un ruolo importante e indipendente nel definire le caratteristiche cliniche, la disabilità funzionale, la progressione della malattia e la prognosi dei pazienti affetti da SLA. Inoltre, sosteniamo il ruolo della TMS nel definire la gravità del coinvolgimento delle UMN.

Colombo E, Gentile F, Maranzano A, Doretti A, Verde F, Olivero M, Gagliardi D, Faré M, Meneri M, Poletti B, Maderna L, Corti S, Corbo M, Morelli C, Silani V, Ticozzi N.

“The impact of upper motor neuron involvement on clinical features, disease progression and prognosis in amyotrophic lateral sclerosis.”

Front Neurol. 2023 Sep 26;14:1249429. doi: 10.3389/fneur.2023.1249429. eCollection 2023. PMID: 37822527. [IF = 4.086]

3.2.5 Uso dell'elettromiografia come strumento prognostico nella Sclerosi Laterale Amiotrofica

L'elettromiografia è comunemente usata come indagine strumentale per supportare la diagnosi di Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA). In questo studio abbiamo indagato la correlazione tra i parametri EMG e gli aspetti clinici in pazienti affetti da SLA. In particolare, abbiamo valutato se la denervazione cronica e attiva possono fornire elementi ai medici sulla tipologia clinica, la progressione e la sopravvivenza nella SLA. Abbiamo raccolto dati EMG riferiti a 11 muscoli oltre a dati cumulativi sulle regioni bulbari e spinali e li abbiamo usati per ottenere punteggi semiquantitativi in grado di descrivere la denervazione attiva e cronica. Abbiamo ottenuto una correlazione positiva tra il grado di denervazione e la compromissione del secondo motoneurone e una negativa tra il grado di denervazione e la scala MRC per la valutazione della funzione neuromuscolare. I risultati di questo importante studio mostrano che l'EMG non è solo uno strumento diagnostico ma anche prognostico. Il parametro di denervazione attiva sembra un migliore predittore della progressione e della sopravvivenza mentre il punteggio della denervazione cronica è meglio associabile alla disabilità funzionale.

Colombo E, Doretto A, Scheveger F, Maranzano A, Pata G, Gagliardi D, Meneri M, Messina S, Verde F, Morelli C, Corti S, Maderna L, Silani V, Ticozzi N

“Correlation between clinical phenotype and electromyographic parameters in amyotrophic lateral sclerosis.”

J Neurol. 2023 Jan;270(1):511-518. doi: 10.1007/s00415-022-11404-4. Epub 2022 Oct 2. PMID: 36183286. [IF = 6.0]

3.3 Un nuovo caso di Malattia di Lafora e l'evoluzione dei miglioramenti terapeutici

La malattia di Lafora (LD) è una malattia genetica rara che comporta una profonda alterazione nel metabolismo del glicogeno. Si manifesta, durante l'adolescenza, come epilessia mioclonica progressiva e declino delle funzioni cognitive. Caratteristica è la presenza di aggregati anomali di glicogeno che, nel tempo, forma inclusioni di notevoli dimensioni, dette Corpi di Lafora (LBs) in diversi tessuti dell'organismo. Scopo di questo studio era descrivere gli aspetti clinici e istopatologici di un caso di LD e fornire un aggiornamento sui nuovi approcci terapeutici della malattia.

Il probando, un ragazzo libico di 20 anni, si presentava con scosse tonico-cloniche generalizzate, scatti muscolari sporadici, spasmi palpebrali e ritardo mentale. Le scariche multiple risultavano visibili al EEG attraverso entrambi gli emisferi cerebrali, la RMN risultava normale. La biopsia muscolare mostrava un aumento del contenuto lipidico e un lieve incremento del glicogeno intermiofibrillare, ma non si osservava l'accumulo di poliglucosani tipico dei LBs. Inoltre, il paziente non risultava responsivo a tre differenti trattamenti antiepilettici. A livello genomico, è stata individuata la variante omozigote c.137G>A, (p.Cys46Tyr) nel gene *EPM2B/NHLRC1* che conferma la diagnosi di LD. Le caratteristiche peculiari atipiche di questo paziente suggeriscono di tenere in considerazione la LD nella diagnosi differenziale delle epilessie miocloniche progressive refrattarie al trattamento farmacologico, in soggetti pediatrici e in giovani adulti, soprattutto se accompagnate da decadimento cognitivo.

Sebbene non esistano ad oggi trattamenti farmacologici efficaci, il loro sviluppo necessita comunque di una corretta diagnosi anche dei soggetti atipici.

Ferrari Aggradi CR, Rimoldi M, Romagnoli G, Velardo D, Meneri M, Iacobucci D, Ripolone M, Napoli L, Ciscato P, Moggio M, Comi GP, Ronchi D, Corti S, Abati E.

“Lafora Disease: A Case Report and Evolving Treatment Advancements.”

Brain Sci. 2023 Dec 6;13(12):1679.

doi: 10.3390/brainsci13121679. PMID: 38137127 [IF = 3.333]

4) Malattie Cerebrovascolari

4.1 Lo studio Treat-CCM: valutazione della sicurezza e della efficacia del farmaco propranololo nel trattamento delle forme familiari di Angiomatosi Cavernosa Cerebrale (CCM)

Questo importante lavoro, sostenuto da un progetto della Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA), è il risultato di uno studio nazionale multicentrico per la valutazione dell'efficacia e della sicurezza del beta bloccante propranololo nella riduzione del rischio emorragico in pazienti con Angiomatosi Cavernosa Cerebrale multipla. Questa condizione è legata a mutazioni nei geni *KRT11*, *CCM2*, *PDCD10*. Il nostro centro è stato ente capofila per la revisione dei dati clinici e neuroradiologici e ha contribuito con il più numeroso gruppo di pazienti diagnosticati a livello molecolare presso il Laboratorio di Biochimica e Genetica.

Lo studio randomizzato, open-label non in cieco di fase 2 Treat-CCM ha coinvolto complessivamente 6 centri per lo studio di questa malattia in Italia. I partecipanti sono stati randomizzati a ricevere propranololo quotidianamente oppure lo standard di cura (gruppo controllo) e sono stati poi seguiti per due anni. I partecipanti sono stati sottoposti a un protocollo di visite cliniche e analisi con risonanza 3 Tesla al momento del reclutamento, e a 12 e 24 mesi dall'inizio dello studio. In tutto sono state reclutate 83 pazienti con una età media di 46 anni (58% femmine e 42% maschi). Le analisi condotte hanno permesso di verificare la sicurezza e la buona tollerabilità del farmaco (solo in 3 casi

il farmaco è stato sospeso per effetti collaterali come ipotensione e debolezza muscolare). L'incidenza degli eventi clinici potrebbe essere mitigata dall'uso del propranololo ma è necessario un numero maggiore di pazienti per confermare questo dato. Non si sono registrate differenze nel tasso di ospedalizzazione dei pazienti tra i due gruppi. I dati raccolti giustificano la pianificazione di un trial di fase 3 da condurre nei pazienti sintomatici affetti da angiomatosi cavernosa cerebrale.

Lanfranconi S, Scola E, Meessen JMTA, Pallini R, Bertani GA, Al-Shahi Salman R, Dejana E, Latini R; Treat_CCM Investigators.

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

Lancet Neurol. 2023 Jan;22(1):35-44. doi: 10.1016/S1474-4422(22)00409-4. Epub 2022 Nov 17. PMID: 36403580 [IF = 48.0]

4.2 L'uso delle tecnologie omiche applicate ai trombi cerebrali per l'avanzamento della ricerca nell'ictus.

Le malattie cerebrovascolari rappresentano una delle maggiori cause di morbidità e mortalità nel mondo. L'introduzione delle terapie endovascolari, insieme ai benefici clinici, ci fornisce anche la possibilità di analizzare il materiale trombotico. Sebbene studi pregressi abbiano fornito elementi importanti per la comprensione della composizione dei trombi e la relazione tra essi e i risultati neuroradiologici, i dati raccolti non sono risultati conclusivi. In questo lavoro di revisione abbiamo indagato quanto noto in letteratura sulla caratterizzazione mediante tecniche omiche dei trombi raccolti dai pazienti e sul valore di questi dati in senso prognostico. L'applicazione di tecniche di trascrittomica, proteomica e metabolomica, pur con i limiti dovuti alla presenza di fattori in grado di modificare o confondere i risultati, può consentire di ottenere nuove conoscenze su possibili biomarcatori, sui fattori che influenzano l'esito clinico nei pazienti e sui meccanismi che sottendono alla formazione dei trombi e degli eventi acuti cerebrovascolari.

Costamagna G, Bonato S, Corti S, Meneri M.

"Advancing Stroke Research on Cerebral Thrombi with Omic Technologies."

Int J Mol Sci. 2023 Feb 8;24(4):3419. doi: 10.3390/ijms24043419. PMID: 36834829 [IF = 5.6]

4.3 Uno studio per la valutazione della risposta in pazienti con occlusione dei grossi vasi sottoposti a trombolisi è trombectomia a confronto con la sola trombolisi

Quale sia il miglior trattamento di riperfusione per i pazienti con ictus ischemico acuto associato ad occlusione di un grosso vaso del circolo anteriore e deficit clinico lieve è ignoto. In questo studio abbiamo valutato l'esito clinico associato a trattamento in acuto versus un approccio combinato di trombolisi e trombectomia endovascolare.

Utilizzando i dati contenuti nel registro internazionale SITS-ISTR abbiamo considerato i pazienti con eventi ischemici acuti consecutivi, trattati a meno di quattro ore e mezzo dall'esordio; con un punteggio alla scala NIHSS inferiore o uguale a 5 e occlusione di grosso vaso del circolo anteriore. In questi pazienti abbiamo valutato l'esito funzionale a 3 mesi in relazione al trattamento effettuato nella fase acuta (trombolisi vs trombolisi + trombectomia meccanica). Il nostro studio ha coinvolto 1037 pazienti evidenziando un maggior rischio di disabilità a distanza nel gruppo di pazienti trattati con trombolisi + trombectomia ed aumento del rischio emorragico in questo stesso gruppo di pazienti. I dati della ricerca hanno confermato un outcome peggiore a 3 mesi nei pazienti con minor disabilità all'esordio ($\text{NIHSS} \leq 5$) sottoposti ad approccio combinato rispetto a quelli trattati la sola trombolisi sistemica. Il nostro studio è in linea con alcuni dati di letteratura e supporta l'importanza dell'implementazione di studi randomizzati controllati per stabilire la migliore strategia terapeutica in questo sottogruppo di pazienti.

Schwarz G, Bonato S, Lanfranconi S, Matusevicius M, Ghione I, Valcamonica G, Tsivgoulis G, Paiva Nunes A, Mancuso M, Zini A, Candelaresi P, Rand VM, Comi GP, Mazza MV, Ahmed N.

“Intravenous thrombolysis + endovascular thrombectomy versus thrombolysis alone in large vessel occlusion mild stroke: a propensity score matched analysis.”

Eur J Neurol. 2023 May;30(5):1312-1319. doi: 10.1111/ene.15722. Epub 2023 Feb 24. PMID: 36746650 [IF = 6.288]

4.4 Studio sui biomarcatori circolanti delle malformazioni cavernose cerebrali familiari

Le malformazioni cavernose cerebrali (CCM) rappresentano una malattia cerebrovascolare rara, caratterizzata dalla presenza di lesioni vascolari multiple che possono provocare emorragie intracerebrali, convulsioni o deficit neurologici focali. La CCM ereditaria (fCCM) è dovuta alla presenza di mutazioni loss of function in uno dei tre geni indipendenti KRIT1 (CCM1), Malcavernina (CCM2) o PDCD10 (CCM3). Lo scopo di questo studio è stato quello di identificare biomarcatori delle proteine plasmatiche della fCCM per valutare la gravità della malattia e prevederne l'evoluzione. Abbiamo analizzato campioni di plasma derivati da 71 pazienti sintomatici con fCCM e 17 donatori sani dello studio di fase 1/2 Treat_CCM, utilizzando un approccio di multiplexed protein profiling (analisi simultanea di più proteine).

Biomarcatori come sCD14, LBP, CXCL4, ICAM-1, ANG2, CCL5, THBS1, CRP e HDL sono risultati essere significativamente diversi in pazienti con fCCM rispetto ai donatori sani. Da notare che sENG, THBS1 e CXCL4 sono risultati essere significativamente correlati al genotipo CCM. sROBO4, TM e CRP sono stati in grado di prevedere eventi clinici avversi, come emorragie intracerebrali, deficit neurologici focali o convulsioni. GDF-15, FLT3L, CXCL9, FGF-21 e CDCP1 si sono rivelati essere dei buoni predittori della formazione di nuove lesioni rilevabili alla risonanza magnetica, nel corso di un follow-up di 2 anni. La rilevanza funzionale dei marcatori ang2, thbs1, robo4 e cdcp1 è stata anche convalidata dal modello preclinico di zebrafish di fCCM.

Nel complesso, il nostro studio è stato in grado di identificare una serie di biomarker di progressione della CCM, suggerendo interpretazioni biologiche e potenziali approcci terapeutici alla malattia.

Lazzaroni F, Meessen JMTA, Sun Y, Lanfranconi S, Scola E, D'Alessandris QG, Tassi L, Carriero MR, Castori M, Marino S, Blanda A, Nicolis EB, Novelli D, Calabrese R, Agnelli NM, Bottazzi B, Leone R, Mazzola S, Besana S, Catozzi C, Nezi L, Lampugnani MG, Malinverno M, Grdseloff N, Rödel CJ, Rezai Jahromi B, Bolli N, Passamonti F, Magnusson PU, Abdelilah-Seyfried S, Dejana E, Latini R.

“Circulating biomarkers in familial cerebral cavernous malformation.”

EBioMedicine. 2023 Dec 18;99:104914. doi: 10.1016/j.ebiom.2023.104914. Online ahead of print. PMID: 38113759 [IF = 11.205]

4.5 Definizione di un punteggio per il rischio genetico per aneurismi intracranici: predizione di emorragia subaracnoidea e ruolo nell'eterogeneità clinica

Sappiamo che i fattori di rischio genetici comuni per l'aneurisma intracranico (IA) e l'emorragia subaracnoidea aneurismatica (ASAH) sono in grado di spiegare in larga parte l'ereditarietà della malattia, e possono dunque essere utilizzati per la previsione del rischio genetico. Sulla base di ciò, abbiamo elaborato uno score di rischio genetico che fosse in grado sia di prevedere l'incidenza di ASAH e la presenza di IA (combinazione di IA e ASAH non rotti) e di valutare anche la sua associazione con le caratteristiche del paziente. Abbiamo creato uno score di rischio genetico che incorporasse i dati di associazione genetica per IA e 17 tratti correlati a IA (il cosiddetto metaGRS) utilizzando 1161 casi di IA e 407 392 controlli provenienti dallo studio sulla popolazione della Biobank del Regno Unito. Il metaGRS è stato validato in combinazione con i fattori di rischio, pressione sanguigna, sesso e fumo in 828 casi di IA e 68 568 controlli dello studio di popolazione Nordici HUNT. Inoltre, abbiamo valutato l'associazione tra metaGRS e caratteristiche dei pazienti in una coorte di 5560 pazienti con IA. Includendo il metaGRS oltre ai fattori di rischio clinici, l'indice di concordanza per prevedere il rischio di ASAH è aumentato (da 0,63 a 0,65), mentre la previsione della presenza di IA non è migliorata. Il metaGRS si è rilevato essere associato in modo statisticamente significativo all'età all'ASAH, e alla posizione dell'IA nell'arteria carotide interna.

Bakker MK, Kanning JP, Abraham G, Martinsen AE, Winsvold BS, Zwart JA, Bourcier R, Sawada T, Koido M, Kamatani Y, Morel S, Amouyel P, Debette S, Bijlenga P, Berrandou T, Ganesh SK, Bouatia-Naji N, Jones G, Bown M, Rinkel GJE, Veldink JH, Ruigrok YM; HUNT All-In Stroke, CADISP group, International Consortium for Blood Pressure, International Headache Genetics Consortium, International Stroke Genetics Consortium (ISGC) Intracranial Aneurysm Working Group.

“Genetic Risk Score for Intracranial Aneurysms: Prediction of Subarachnoid Hemorrhage and Role in Clinical Heterogeneity.”

Stroke. 2023 Mar;54(3):810-818. doi: 10.1161/STROKEAHA.122.040715. Epub 2023 Jan 19. PMID: 36655558. [IF = 10.17]

4.6 Studio pilota sulla suscettibilità magnetica come predittore dell'esito clinico nelle malformazioni cavernose cerebrali ereditarie ad 1 anno di follow-up

Lo scopo di questo studio è stato quello di verificare se la mappatura quantitativa della suscettibilità (QSM) delle malformazioni cavernose cerebrali (CCM) valutate alla *baseline* potesse predire la presenza o l'assenza di segni emorragici ad 1 anno di follow-up. Pazienti con CCM familiare sono stati arruolati nello studio multicentrico longitudinale “Treat-CCM”. Lo scan di risonanza magnetica da 3 Tesla ha permesso di eseguire una segmentazione semiautomatica dei CCM e di calcolare la massima suscettibilità in ciascun CCM segmentato (QSMmax) alla *baseline*. Le CCM sono state classificate come emorragiche e non emorragiche alla *baseline*, e poi sottoclassificate in base all'evoluzione ad 1 anno. Abbiamo dunque testato le differenze tra i gruppi, e calcolato l'accuratezza diagnostica di QSMmax nel predire la presenza o l'assenza di segni emorragici nelle CCM. Nell'analisi sono stati inclusi 33 pazienti e sono stati segmentati un totale di 1126 CCM. Il QSMmax è risultato essere più elevato nei CCM emorragici rispetto ai CCM non emorragici. Nelle CCM emorragiche alla *baseline*, l'accuratezza di QSMmax nel differenziare le CCM ancora emorragiche dalle CCM guarite dall'emorragia ad 1 anno di follow-up ha raggiunto un punteggio AUC (area under the curve) di 0.78 (con sensibilità 62.69%, specificità 82,35%, un valore predittivo positivo del 93,3% e valore predittivo negativo del 35,9%). Nelle CCM non emorragiche alla *baseline*, l'AUC è stato di 0,91 nel differenziare le CCM che sanguinavano ad 1 anno di follow-up dalle CCM stabili (con sensibilità 100%, specificità 81,9%, valore predittivo positivo 5,1% e valore predittivo negativo 100%). Il QSMmax nelle CCM alla *baseline* ha mostrato dunque un'elevata accuratezza nel predire la presenza o l'assenza di segni emorragici al follow-up di 1 anno. Sono necessari ulteriori sforzi per testare il ruolo del QSM nella valutazione di follow-up a lungo termine e nel contesto di trial terapeutici multicentrici sulla CCM.

Incerti I, Fusco M, Contarino VE, Siggillino S, Conte G, Lanfranconi S, Bertani GA, Gaudino C, d'Orio P, Pallini R, D'Alessandris QG, Meessen JMTA, Nicolis EB, Vasamì A, Dejana E, Bianchi AM, Triulzi FM, Latini R, Scola E.

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

Eur Radiol. 2023 Jun;33(6):4158-4166. doi: 10.1007/s00330-022-09366-2. Epub 2023 Jan 5. PMID: 36602570. [IF = 5.9]

LABORATORIO DI NEUROIMMUNOLOGIA CLINICA

Prof. Giacomo P. Comi, Neurologo
Dott.ssa Domenica Saccomanno, Biologa

Laboratorio di Neuroimmunologia: Certificazione di qualità INSTAND (europeo) anno 2022 inerente la diagnostica delle neuropatie periferiche disimmuni e delle sindromi neurologiche paraneoplastiche.

Attività diagnostica Il Laboratorio di Neuroimmunologia si occupa del dosaggio dei principali anticorpi associati a neuropatie periferiche (NP) disimmuni quali: polineuropatia cronica infiammatoria demielinizzante (CIDP), neuropatia motoria multifocale (MMN), neuropatia sensitivo-motoria demielinizzante associata a gammopatia monoclonale IgM, sindrome di Guillain Barré (GBS), sue varianti e la sindrome di Miller Fisher (MFS). Si occupa altresì del dosaggio di anticorpi anti-neurone/cervelletto associati alle sindromi neurologiche paraneoplastiche e non, quali: Sindrome di Stiff-person, Atassia cerebellare, Encefalite limbica, Encefalomielite e la Lambert-Eaton Myasthenic Syndrom (LEMS) mediante tecniche di immunofluorescenza indiretta (IIF) ed Immunoblot (IB). Presso il nostro laboratorio è possibile eseguire la ricerca dei seguenti anticorpi: anti- HuD, Yo, Ri, CV2, Amfifisina, Ma1, Ma2, SOX1, Tr, Zic4 e GAD65. Anticorpi anti-MAG ed anticorpi anti-gangliosidi.

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 tramite la partecipazione a numerose sperimentazioni cliniche, con specifico indirizzo per le patologie neuromuscolari.

Negli ultimi anni vi sono stati notevoli sviluppi nell'ambito della ricerca clinica in queste patologie sia in termine di numerosità degli studi proposti e di molecole testate sia in termine di patologie per le quali vengono vagliate nuove strategie terapeutiche.

Nel corso del 2023 sono proseguite le sperimentazioni cliniche già iniziate negli anni precedenti in pazienti affetti da distrofinopatia (Distrofia muscolare di Duchenne DMD), Amiotrofia Spinale (SMA), Polineuropatia Cronica infiammatoria Demielinizzante ed è iniziato uno studio osservazionale in pazienti affetti da Distrofia Muscolare dei Cingoli. Inoltre sono state poste le basi per il coinvolgimento in sperimentazioni farmacologiche in gruppi di patologie finora prive di reali prospettive terapeutiche, in particolare le Distrofie Muscolari dei Cingoli da deficit di beta-sarcoglicano, gamma-sarcoglicano e Fukutin Related Protein e la Distrofia Muscolare di Becker.

Le sperimentazioni svolte nel corso del 2023 includono:

1) Sperimentazioni in pazienti affetti da Distrofia Muscolare di Duchenne

- PTC124-GD-025o-DMD Long term observational study of Translarna Safety and effectiveness in Usual Care
- 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"
- EMBARK SRP-9001-301 A Phase 3 Multinational, Randomized, Double-Blind, Placebo Controlled Systemic Gene Delivery Study to Evaluate the Safety and Efficacy of SRP 9001 in Subjects With Duchenne Muscular Dystrophy"

1.1 Studio Embark - Terapia genica con vettore virale adeno-associato (AAV) in pazienti affetti da Distrofia Muscolare di Duchenne

Nel corso del 2023 abbiamo continuato a seguire con valutazioni periodiche i 3 pazienti arruolati in questo studio di terapia genica sponsorizzato da Sarepta Therapeutics. Lo studio prevede la somministrazione di vettore virale adeno-associato (AAV) codificante per microdistrofina in pazienti pediatrici affetti da DMD vs placebo. I pazienti sono stati arruolati nello studio nell'estate del 2022. Tra agosto e settembre 2023 per questi pazienti è iniziata la seconda fase dello studio, il cui protocollo prevedeva all'inizio del secondo anno un cross-over con somministrazione del farmaco in chi era stato randomizzato nel braccio placebo e viceversa. Al momento attuale tutti e tre i pazienti stanno proseguendo lo studio e vengono sottoposti a valutazioni periodiche volte a valutare sicurezza ed efficacia del farmaco. Presentano un quadro stabile. Lo studio terminerà nella seconda metà del prossimo anno e prevede comunque il passaggio ad una fase di osservazione e raccolta dei dati a lungo termine.

1.2. EPYDYS: Valutazione di efficacia di Givinostat, un inibitore delle istone deacetilasi nella Distrofia Muscolare di Duchenne

Lo studio sperimentale internazionale a cui partecipiamo valuta l'attività della molecola Givinostat in bambini affetti da Distrofia Muscolare di Duchenne. Questo farmaco è in fase di studio presso il nostro centro dal 2017. Abbiamo partecipato a un primo studio preliminare di fase II attualmente concluso e allo studio multicentrico di fase III placebo/controllo che ha incluso 110 pazienti e che si è concluso lo scorso anno.. Attualmente 6 nostri pazienti che avevano partecipato ai precedenti studi sono arruolati in uno di estensione per consentire la raccolta di dati di sicurezza ed efficacia a lungo termine. Oltre ad essere uno studio su un farmaco innovativo, è anche il primo studio clinico

farmacologico, nella Distrofia Muscolare di Duchenne, che utilizza la Risonanza Magnetica Muscolare come misura di outcome.

1.3 Registro Stride.

Prosegue presso il nostro Centro la raccolta dei dati clinici per lo studio osservazionale a lungo termine (PTC124-GD-025o-DMD) in pazienti affetti da Distrofia Muscolare di Duchenne portatori di mutazioni puntiformi trattati con Ataluren. La molecola è in grado di promuovere il *reading through* di mutazioni responsabili di stop codon patologici. Al momento attuale sono arruolati presso il nostro Centro 6 pazienti. L'analisi intermedia dei dati raccolti nel registro conferma l'efficacia del farmaco nel posticipare la perdita della deambulazione e la compromissione degli arti superiori e respiratoria.

1.4 Studi di prossima attivazione

La partecipazione a studi clinici sponsorizzati internazionali è preceduta da una lunga fase in cui vengono verificati i requisiti per la partecipazione ed espletate pratiche amministrative indispensabili per la partenza dello studio. Nel corso del 2023 abbiamo curato le procedure necessarie per la partecipazione e la selezione per ai seguenti studi, che partiranno verosimilmente nel 2024:

- Studio SRP-9001-303 Envision

Finora gli studi di terapia genica nella DMD sono stati rivolti a una popolazione molto ristretta come fascia di età, che corrisponde a bimbi ancora deambulanti, in fase iniziale di declino delle performance motorie. Questo studio estende la possibilità di partecipare a sperimentazioni di terapia genica a pazienti affetti da Distrofia Muscolare di Duchenne di età maggiore e non deambulanti. LO scopo è quello di valutare la sicurezza del farmaco e la sua efficacia nel rallentare la progressione della patologia, in particolare epr quanto riguarda la funzionalità cardiaca e respiratoria e la stenia degli arti superiori. E' questo un passo importante perché consente l'accesso a una terapia estremamente innovativa a una popolazione di pazienti che finora hanno avuto un accesso molto limitato a terapie sperimentali.

- **Studio SRP-9001-305 Expedition** Questo studio costituisce la prosecuzione dello studio Embark e consentirà la raccolta a lungo termine dei dati clinici e funzionali dei pazienti precedentemente trattati.

2) Sperimentazioni in pazienti affetti da distrofinopatie (Distrofia Muscolare di Becker)

Nel corso del 2023 sono stati pubblicati i risultati della sperimentazione con farmaco Givinostat condotta negli scorsi anni presso il nostro Istituto in pazienti affetti da Distrofia Muscolare di Becker. I risultati di questo studio in doppio cieco della durata di un anno hanno evidenziato una modifica nel quadro di RMN muscolare mentre non sono state evidenziate modificazioni significative sui parametri biotici e sulle performances funzionali.

- EDG-5506-201A Phase 2 Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Study to Evaluate the Effect of EDG-5506 on Safety, Biomarkers, Pharmacokinetics, and Functional Measures in Adults and Adolescents With Becker Muscular Dystrophy

Durante quest'anno siamo stati inoltre selezionati per la partecipazione allo studio **Grand Canyon**, studio di fase 2 in doppio cieco della durata di 18 mesi che testerà l'efficacia della molecola EDG-5506 in circa 120 pazienti BMD adulti di età compresa tra 18 e 50 anni.

EDG-5506 è una molecola sviluppata per preservare il muscolo dai danni indotti dalla contrazione. Questa molecola è già in corso di studio in pazienti affetti da Distrofia Muscolare di Duchenne. Inoltre la sua sicurezza, tollerabilità e impatto su alcuni biomarcatori del danno muscolare nella BMD sono state valutate in un primo studio clinico tuttora in corso in 12 pazienti adulti.

3 Sperimentazioni in pazienti affetti da Atrofia Muscolare Spinale

- 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”
- BP39055 “A Two-Part Seamless, Multi-Center Randomized, Placebo-Controlled, Doubleblind Study to Investigate the Safety, Tolerability, Pharmacokinetics, Pharmacodynamics and Efficacy of RO7034067 in Type 2 and 3 Spinal Muscular Atrophy Patients”
- BP39054 “An open label study to investigate the safety, tolerability, and pharmacokinetics/ Pharmacodynamics of RO7034067 in adult and pediatric patients with spinal muscular atrophy”
- A Long-term Follow-up Study of Patients in the Clinical Trials for Spinal Muscular Atrophy Receiving”. AVXS-101-LT-002. NCT04042025.

L'atrofia muscolare spinale è una malattia neurodegenerativa relativamente frequente causata dalla mutazione del gene SMN1. Questo gene è responsabile della produzione della proteina di sopravvivenza dei motoneuroni (Survival Motor Neuron, SMN). Negli individui affetti da atrofia muscolare spinale, entrambe le copie del gene *SMN1* sono delete o mutate e ciò provoca la riduzione della produzione della proteina SMN. Il gene SMN2 differisce dal gene SMN1 per pochi nucleotidi tra cui un nucleotide specifico nell'esone 7 che causa un'alterazione di splicing. Di conseguenza è prodotto solo il 10% della proteina full-length e il restante 90% è un trascritto mancante dell'esone 7 (SMN Δ 7) non funzionale. Pur con qualche eccezione, la gravità della malattia correla inversamente con il numero delle copie del gene SMN2.

Al momento attuale per questa patologia sono stati approvati tre farmaci che prevedono due principali meccanismi d'azione. I farmaci Risdiplam e Nusinersen modulano lo splicing di SMN2 con l'obiettivo di determinare la produzione di una proteina full-length e funzionante mentre Zolgesma è un approccio di terapia genica. Sono inoltre in corso di studio approcci di combinazione di questi farmaci e studio di altri prodotti sperimentali in grado di intervenire sui meccanismi a valle della perdita di SMN1.

L'efficacia di queste terapie è tanto maggiore quanto più precocemente vengono iniziate durante il processo di degenerazione dei motoneuroni.

Nel 2023 è stato finalmente approvato in Lombardia lo screening neonatale per questa grave patologia neuromuscolare. E' questa una tappa fondamentale in quanto consente di diagnosticare precocemente questa patologia e di intervenire ipoteticamente in fase presintomatica, migliorando l'outcome finale. La disponibilità di approcci terapeutici innovativi è valida a questo punto fondamentale.

Presso il nostro Centro seguiamo pazienti trattati con tutte e tre le tipologie di farmaci. Sono farmaci ormai in commercio ma ancora oggetto di trial clinici al fine di valutare l'efficacia a lungo termine o la possibilità di combinare più approcci nello stesso paziente.

3.1) Studi Firefish, Sunfish, Jewelfish nella Atrofia Muscolare Spinale

Risdiplam, approvato in Agosto 2020 negli USA e ad aprile 2021 dall'EMA, è attualmente in commercio con indicazione al trattamento di pazienti con SMA 5q di età uguale o superiore a 2 mesi con diagnosi clinica di SMA di tipo 1, 2 o 3.

Le sperimentazioni, tuttavia sono proseguite per consentire la raccolta dei dati di sicurezza ed efficacia a lungo termine.

Nel complesso nell'ambito di questi studi sono seguiti circa 17 pazienti, con un follow-up ormai superiore ai 5 anni.

Nel 2023 gli studi Firefish e Sunfish si sono conclusi, dopo un follow-up di 5 anni. Lo studio Firefish includeva pazienti affetti da SMAI mentre lo studio Sunfish pazienti affetti da SMA di tipo II e di tipo III non deambulanti. Nonostante gli studi siano terminati abbiamo garantito ai pazienti la

possibilità di proseguire con l'assunzione del farmaco (dispensato come farmaco commerciale o come farmaco ad uso compassionevole). I pazienti inoltre continueranno ad effettuare valutazioni periodiche presso i nostri ambulatori al fine di raccogliere ulteriori dati di sicurezza ed efficacia a lungo termine.

Rimane invece attivo ancora lo studio Jewelfish, che include 10 pazienti affetti da SMAII e SMA III non deambulanti.

3.2) Terapia genica con vettore virale adeno-associato (AAV) in bambini affetti da Amiotrofia Spinale

E' proseguito nel 2023 lo studio osservazionale a lungo termine per i pazienti precedentemente trattati con terapia genica.

Tra il 2018 e al 2020 il nostro Centro ha partecipato a una sperimentazione clinica con terapia genica per pazienti affetti da Atrofia Muscolare Spinale di tipo I di particolare importanza per il carattere di innovazione della metodica utilizzata.

Presso il nostro Centro sono stati trattati 4 pazienti con la forma di SMA di tipo I. E' attualmente in corso lo studio di estensione che prevede un follow up neurologico, cardiologico, pneumologico e funzionale per 15 anni degli stessi pazienti. Due dei pazienti arruolati presso il nostro centro hanno accettato di partecipare. Il follow-up attuale evidenzia una stabilizzazione del quadro clinico.

4 Sperimentazioni in pazienti affetti da Polineuropatia Cronica infiammatoria Demielinizzante (CIDP)

- Open-label Extension of the ARGX-113-1802 Trial to Investigate the Long-term Safety, Tolerability, and Efficacy of Efgartigimod PH20 SC in Patients with Chronic Inflammatory Demyelinating Polyneuropathy (CIDP). ARGX-113-1902

Nel 2021 è partita presso la nostra UO una sperimentazione di fase 2, prospettica, multicentrica volta a valutare l'efficacia, la sicurezza, la tollerabilità, l'immunogenicità, la farmacocinetica e la farmacodinamica di efgartigimod (ARGX-113) associato a ialuronidasi umana ricombinante PH20 (rHuPH20) (efgartigimod PH20 SC) somministrata per via sottocutanea (SC) in pazienti affetti da polineuropatia demielinizzante infiammatoria cronica (CIDP). Lo studio è volto a valutare se il farmaco abbia una maggiore efficacia rispetto alle terapie più convenzionali, che sono spesso non completamente soddisfacenti. Gli stretti criteri di inclusione rendono difficile l'arruolamento dei pazienti.

Al momento attuale un paziente è stato arruolato nello studio ed è attualmente seguito nella fase di estensione.

5. Sperimentazioni in pazienti affetti da Distrofia Muscolare dei Cingoli (LGMD)

- SRP-LGMD-501-NHS - A Multi-Center, Longitudinal Study of the Natural History of Subjects with Limb Girdle Muscular Dystrophy (LGMD) Type 2E (LGMD2E/R4), Type 2D (LGMD2D/R3), and Type 2C (LGMD2C/R5)". SRP-LGMD-501-NHS.

6.1.1 Storia naturale sarcoglicanopatie

Le Distrofie Muscolari dei Cingoli (LGMD) sono un gruppo eterogeneo di patologie caratterizzate da un progressivo sviluppo di debolezza muscolare localizzata prevalentemente al cingolo pelvico e scapolare associato a variabile interessamento cardiaco e respiratorio.

Queste forme presentano un'elevata variabilità clinica e genetica. Al momento attuale sono state descritte più di 25 forme e le proteine coinvolte presentano differenti funzioni all'interno della fibra muscolare.

Le sarcoglicanopatie sono un sottogruppo di Distrofie Muscolari dei Cingoli dovute a mutazioni in uno dei 4 geni che codificano per i sarcoglicani, proteine strutturali del sarcolemma.

Al momento attuale non esistono terapie specifiche per questo gruppo di patologie. Tuttavia, potenziali nuovi approcci terapeutici sono all'orizzonte, soprattutto nelle sarcoglicanopatie, forme per le quali, in analogia con quanto sta avvenendo per la Distrofia Muscolare di Duchenne, sono stati proposti approcci di terapia genica.

Al fine di garantire una buona riuscita delle sperimentazioni cliniche è fondamentale conoscere la storia naturale di queste patologie e definire potenziali misure di outcome. La rarità di queste forme ha tuttavia finora reso difficile la raccolta sistematica e prospettica di tali dati.

Questo studio si propone di definire la storia naturale delle sarcoglicanopatie. Prevede la raccolta con frequenza semestrale per 3 anni di dati clinici, funzionali, morfologici di pazienti affetti da sarcoglicanopatia. Viene valutato il grado di compromissione muscolare tramite scale funzionali, il coinvolgimento cardiaco e quello respiratorio e la loro velocità di progressione nel tempo. I pazienti saranno sottoposti a RMN cardiaca, RMN muscolare.

Al momento seguiamo 13 pazienti che effettuano un regolare follow-up. Per questi pazienti abbiamo già raccolto i dati ad un anno.

5.1 Studi di prossima attivazione

Fino a pochi anni fa non vi erano prospettive terapeutiche per pazienti affetti da Distrofia Muscolare dei Cingoli ad eccezione di un regolare follow-up cardiaco e respiratorio e una regolare fisioterapia. Negli ultimi anni sono stati tuttavia ottenuti risultati promettenti sia a livello preclinico sia in studi clinici di fase 1.

Nel corso del 2023 abbiamo curato le procedure necessarie per la partecipazione e la selezione per ai seguenti studi, che partiranno verosimilmente nel 2024:

- **MLB-01-005A Phase 3 Randomized, Placebo-controlled, Double-blind Study to Evaluate the Efficacy and Safety of BBP-418 (Ribitol) in Patients With Limb Girdle Muscular Dystrophy 2I (LGMD2I)**
Ribitol è una piccola molecola somministrata per via orale. La sua assunzione dovrebbe migliorare la glicosilazione della proteina alfa-distroglicano in pazienti affetti da Distrofia Muscolare dei Cingoli da deficit di Fukutin Related Protein. L'efficacia e sicurezza sono stati già valutati in uno studio di fase 2. Questo studio di fase 3 in doppio cieco consentirà di verificare ulteriormente questi dati. Nel corso del 2023 abbiamo seguito il processo di attivazione del centro e abbiamo iniziato a valutare i primi pazienti per valutare il possesso dei criteri di inclusione per lo studio.
- **SRP-9003-301 A Phase 3 Multinational, Open-label, Systemic Gene Delivery Study to Evaluate the Safety and Efficacy of SRP-9003 in Subjects with Limb Girdle Muscular Dystrophy 2E/R4**
Questo studio di fase 3 prevede la somministrazione endovenosa di terapia genica in un piccolo gruppo di pazienti affetti da Distrofia Muscolare dei Cingoli da deficit di Beta- sarcoglicano. Questo studio si propone di verificare la sicurezza e l'efficacia della terapia genica in pazienti affetti da questo tipo di distrofia muscolare. Rappresenta il primo approccio terapeutico in questa forma di distrofia.
- **A Phase 1-2, Open-label, Dose Escalation Study to Evaluate the Safety of 2 Doses of Intravenous ATA-200, an Adeno-associated Viral Vector Carrying the Human Gamma-sarcoglycan Gene, in Patients With Gamma-sarcoglycanopathy (Limb-girdle Muscular Dystrophy LGMDR5)**

Questo studio di terapia genica prevede l'inclusione di pazienti affetti da Distrofia Muscolare dei Cingoli da deficit di gamma-sarcoglicano di età compresa tra 6 e 12 anni. Prevede l'inclusione di 6 pazienti e parteciperanno allo studio solo 2 centri, tra cui il nostro. Nel corso del 2023 abbiamo seguito il processo di attivazione del centro e abbiamo iniziato la selezione dei pazienti.

Elenco delle Pubblicazioni Scientifiche

Velardo D, Antognozzi S, Rimoldi M, Pagliarani S, Cogiamanian F, Barbieri S, Corti S, Comi GP, Ronchi D.

“Case report: Clinical and molecular characterization of two siblings affected by Brody myopathy.”
Front Neurol. 2023 Jun 2;14:1170071. doi: 10.3389/fneur.2023.1170071. eCollection 2023. PMID: 37332993 [IF = 4.086]

Dosi C, Rubegni A, Baldacci J, Galatolo D, Doccini S, Astrea G, Berardinelli A, Bruno C, Bruno G, Comi GP, Donati MA, Dotti MT, Filosto M, Fiorillo C, Giannini F, Gigli GL, Grandis M, Lopergolo D, Magri F, Maioli MA, Malandrini A, Massa R, Matà S, Melani F, Messina S, Mignarri A, Moggio M, Pennisi EM, Pegoraro E, Ricci G, Sacchini M, Schenone A, Sampaolo S, Sciacco M, Siciliano G, Tasca G, Tonin P, Tupler R, Valente M, Volpi N, Cassandrini D, Santorelli FM.

“Using Cluster Analysis to Overcome the Limits of Traditional Phenotype-Genotype Correlations: The Example of RYR1-Related Myopathies.”

Genes (Basel). 2023 Jan 23;14(2):298. doi: 10.3390/genes14020298. PMID: 36833224. [IF = 3.5]

Comi GP, Niks EH, Vandenborne K, Cinnante CM, Kan HE, Willcocks RJ, Velardo D, Magri F, Ripolone M, van Benthem JJ, van de Velde NM, Nava S, Ambrosoli L, Cazzaniga S, Bettica PU.

“Givinostat for Becker muscular dystrophy: A randomized, placebo-controlled, double-blind study.”

Front Neurol. 2023 Jan 30;14:1095121. doi: 10.3389/fneur.2023.1095121. eCollection 2023. PMID: 36793492. [IF = 4.086]

Pezzoni L, Brusa R, Difonzo T, Magri F, Velardo D, Corti S, Comi GP, Saetti MC.

“Cognitive abnormalities in Becker muscular dystrophy: a mysterious link between dystrophin deficiency and executive functions.”

Neurol Sci. 2023 Nov 15. doi: 10.1007/s10072-023-07169-x. Online ahead of print. PMID: 37968431. [IF = 3.2]

Rimoldi M, Magri F, Antognozzi S, Ripolone M, Salani S, Piga D, Bertolasi L, Zanotti S, Ciscato P, Fortunato F, Moggio M, Corti S, Comi GP, Ronchi D.

“Prominent muscle involvement in a familial form of mitochondrial disease due to a COA8 variant.”

Front Genet. 2023 Nov 30;14:1278572. doi: 10.3389/fgene.2023.1278572. eCollection 2023. PMID: 38098475. [IF = 3.8]

Invernizzi F, Izzo R, Colangelo I, Legati A, Zanetti N, Garavaglia B, Lamantea E, Peverelli L, Ardisson A, Moroni I, Maggi L, Bonanno S, Fiori L, Velardo D, Magri F, Comi GP, Ronchi D, Ghezzi D, Lamperti C.

“NGS-Based Genetic Analysis in a Cohort of Italian Patients with Suspected Inherited Myopathies and/or HyperCKemia”

Genes (Basel). 2023 Jul 2;14(7):1393. doi: 10.3390/genes14071393. PMID: 37510298 [IF = 3.5]

Ronchi D, Garbellini M, Magri F, Menni F, Meneri M, Bedeschi MF, Dilena R, Cecchetti V, Picciolli I, Furlan F, Polimeni V, Salani S, Pezzoli L, Fortunato F, Bellini M, Piga D, Ripolone M, Zanotti S, Napoli L, Ciscato P, Sciacco M, Mangili G, Mosca F, Corti S, Iascone M, Comi GP

“A biallelic variant in COX18 cause isolated Complex IV deficiency associated with neonatal encephalo-cardio-myopathy and axonal sensory neuropathy.”

Eur J Hum Genet. 2023 Dec;31(12):1414-1420. doi: 10.1038/s41431-023-01433-6.

Epub 2023 Jul 19. PMID: 37468577 [IF = 5.3]

Scarcella S, Dell'Arti L, Gagliardi D, Magri F, Govoni A, Velardo D, Mainetti C, Minorini V, Ronchi D, Piga D, Comi GP, Corti S, Meneri M.

“Ischemic optic neuropathy as first presentation in patient with m.3243 A > G MELAS classic mutation.”

BMC Neurol. 2023 Apr 24;23(1):165. doi: 10.1186/s12883-023-03198-3. PMID: 37095452 [IF = 2.9]

Ricci M, Cicala G, Capasso A, Coratti G, Fiori S, Cutrona C, D'Amico A, Sansone VA, Bruno C, Messina S, Mongini T, Coccia M, Siciliano G, Pegoraro E, Masson R, Filosto M, Comi GP, Corti S, Ronchi D, Maggi L, D'Angelo MG, Vacchiano V, Ticci C, Ruggiero L, Verriello L, Ricci FS, Berardinelli AL, Maioli MA, Garibaldi M, Nigro V, Previtali SC, Pera MC, Tizzano E, Pane M, Tiziano FD, Mercuri E; ITASMAC Working Group

“Clinical Phenotype of Pediatric and Adult Patients With Spinal Muscular Atrophy With Four SMN2 Copies: Are They Really All Stable?”

Ann Neurol. 2023 Dec;94(6):1126-1135. doi: 10.1002/ana.26788. Epub 2023 Sep 22. PMID: 37695206 [IF = 11.274]

Chiriboga CA, Bruno C, Duong T, Fischer D, Mercuri E, Kirschner J, Kostera-Pruszczyk A, Jaber B, Gorni K, Kletzl H, Carruthers I, Martin C, Warren F, Scalco RS, Wagner KR, Muntoni F; JEWELFISH Study Group.

“Risdiplam in Patients Previously Treated with Other Therapies for Spinal Muscular Atrophy: An Interim Analysis from the JEWELFISH Study.”

Neurol Ther. 2023 Apr;12(2):543-557. doi: 10.1007/s40120-023-00444-1. Epub 2023 Feb 13. PMID: 36780114 [IF = 4.446]

Vicino A, Bello L, Bonanno S, Govoni A, Cerri F, Ferraro M, Capece G, Gadaleta G, Meneri M, Vacchiano V, Ricci G, D'Errico E, Tramacere I, Banfi P, Bortolani S, Zanin R, Maioli MA, Silvestrini M, Previtali SC, Berardinelli A, Turri M, Coccia M, Mantegazza R, Liguori R, Filosto M, Siciliano G, Simone IL, Mongini T, Comi G, Pegoraro E, Maggi L.

“Respiratory function in a large cohort of treatment-naïve adult spinal muscular atrophy patients: a cross-sectional study.”

Neuromuscul Disord. 2023 Dec;33(12):911-916. doi: 10.1016/j.nmd.2023.10.002. Epub 2023 Oct 12. PMID: 37945485 [IF = 3.538]

Meneri M, Abati E, Gagliardi D, Faravelli I, Parente V, Ratti A, Verde F, Ticozzi N, Comi GP, Ottoboni L, Corti S

“Identification of Novel Biomarkers of Spinal Muscular Atrophy and Therapeutic Response by Proteomic and Metabolomic Profiling of Human Biological Fluid Samples.”

Biomedicines. 2023 Apr 23;11(5):1254. doi: 10.3390/biomedicines11051254. PMID: 37238925 [IF = 4.7]

Pane M, Berti B, Capasso A, Coratti G, Varone A, D'Amico A, Messina S, Masson R, Sansone VA, Donati MA, Agosto C, Bruno C, Ricci F, Pini A, Gagliardi D, Filosto M, Corti S, Leone D, Palermo C, Onesimo R, De Sanctis R, Ricci M, Bitetti I, Sframeli M, Dosi C, Albamonte E, Ticci C, Brolatti N, Bertini E, Finkel R, Mercuri E; ITASMAc group.

“Onasemnogene abeparvovec in spinal muscular atrophy: predictors of efficacy and safety in naïve patients with spinal muscular atrophy and following switch from other therapies.”

EClinicalMedicine. 2023 May 5;59:101997. doi: 10.1016/j.eclinm.2023.101997. eCollection 2023 May. PMID: 37197706 [IF = 15.1]

Ricci G, Torri F, Govoni A, Chiappini R, Manca L, Vadi G, Roccella S, Magri F, Meneri M, Fassini F, Vacchiano V, Tomassini S, Gironella N, Coccia M, Comi G, Liguori R, Siciliano G. *“Proposal of a new clinical protocol for evaluating fatigability in adult SMA patients.”*

Acta Myol. 2023 Sep 30;42(2-3):65-70. doi: 10.36185/2532-1900-330. eCollection 2023. PMID: 38090548 [IF = 2.13]

Gagliardi D, Ripellino P, Meneri M, Del Bo R, Antognozzi S, Comi GP, Gobbi C, Ratti A, Ticozzi N, Silani V, Ronchi D, Corti S.

“Clinical and molecular features of patients with amyotrophic lateral sclerosis and SOD1 mutations: a monocentric study.”

Front Neurol. 2023 May 17;14:1169689. doi: 10.3389/fneur.2023.1169689. eCollection 2023. PMID: 37265463 [IF = 4.086]

Manini A, Gagliardi D, Meneri M, Antognozzi S, Del Bo R, Comi GP, Corti S, Ronchi D
“NOTCH2NLC GGC repeats are not expanded in Italian amyotrophic lateral sclerosis patients.”

Sci Rep. 2023 Feb 23;13(1):3187. doi: 10.1038/s41598-023-30393-6. PMID: 36823368 [IF = 4.6]

Maranzano A, Verde F, Colombo E, Poletti B, Doretti A, Bonetti R, Gagliardi D, Meneri M, Maderna L, Messina S, Corti S, Morelli C, Silani V, Ticozzi N.

“Regional spreading pattern is associated with clinical phenotype in amyotrophic lateral sclerosis.”

Brain. 2023 Oct 3;146(10):4105-4116. doi: 10.1093/brain/awad129. PMID: 37075222. [IF = 14.5]

Colombo E, Gentile F, Maranzano A, Doretti A, Verde F, Olivero M, Gagliardi D, Faré M, Meneri M, Poletti B, Maderna L, Corti S, Corbo M, Morelli C, Silani V, Ticozzi N.

“The impact of upper motor neuron involvement on clinical features, disease progression and prognosis in amyotrophic lateral sclerosis.”

Front Neurol. 2023 Sep 26;14:1249429. doi: 10.3389/fneur.2023.1249429. eCollection 2023. PMID: 37822527. [IF = 4.086]

Colombo E, Doretti A, Scheveger F, Maranzano A, Pata G, Gagliardi D, Meneri M, Messina S, Verde F, Morelli C, Corti S, Maderna L, Silani V, Ticozzi N

“Correlation between clinical phenotype and electromyographic parameters in amyotrophic lateral sclerosis.”

J Neurol. 2023 Jan;270(1):511-518. doi: 10.1007/s00415-022-11404-4. Epub 2022 Oct 2. PMID: 36183286. [IF = 6.0]

Ferrari Aggradi CR, Rimoldi M, Romagnoli G, Velardo D, Meneri M, Iacobucci D, Ripolone M, Napoli L, Ciscato P, Moggio M, Comi GP, Ronchi D, Corti S, Abati E.

“Lafora Disease: A Case Report and Evolving Treatment Advancements.”

Brain Sci. 2023 Dec 6;13(12):1679. doi: 10.3390/brainsci13121679. PMID: 38137127 [IF = 3.333]

Lanfranconi S, Scola E, Meessen JMTA, Pallini R, Bertani GA, Al-Shahi Salman R, Dejana E, Latini R; Treat_CCM Investigators.

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

Lancet Neurol. 2023 Jan;22(1):35-44. doi: 10.1016/S1474-4422(22)00409-4. Epub 2022 Nov 17. PMID: 36403580 [IF = 48.0]

Costamagna G, Bonato S, Corti S, Meneri M.

“Advancing Stroke Research on Cerebral Thrombi with Omic Technologies.”

Int J Mol Sci. 2023 Feb 8;24(4):3419. doi: 10.3390/ijms24043419. PMID: 36834829 [IF = 5.6]

Schwarz G, Bonato S, Lanfranconi S, Matusевич M, Ghione I, Valcamonica G, Tsivgoulis G, Paiva Nunes A, Mancuso M, Zini A, Candelaresi P, Rand VM, Comi GP, Mazya MV, Ahmed N.

“Intravenous thrombolysis + endovascular thrombectomy versus thrombolysis alone in large vessel occlusion mild stroke: a propensity score matched analysis.”

Eur J Neurol. 2023 May;30(5):1312-1319. doi: 10.1111/ene.15722. Epub 2023 Feb 24. PMID: 36746650 [IF = 6.288]

Lazzaroni F, Meessen JMTA, Sun Y, Lanfranconi S, Scola E, D'Alessandris QG, Tassi L, Carriero MR, Castori M, Marino S, Blanda A, Nicolis EB, Novelli D, Calabrese R, Agnelli NM, Bottazzi B, Leone R, Mazzola S, Besana S, Catozzi C, Nezi L, Lampugnani MG, Malinverno M, Grdseloff N,

Rödel CJ, Rezai Jahromi B, Bolli N, Passamonti F, Magnusson PU, Abdelilah-Seyfried S, Dejana E, Latini R.

“Circulating biomarkers in familial cerebral cavernous malformation.”

EBioMedicine. 2023 Dec 18;99:104914. doi: 10.1016/j.ebiom.2023.104914. Online ahead of print. PMID: 38113759 [IF = 11.205]

Bakker MK, Kanning JP, Abraham G, Martinsen AE, Winsvold BS, Zwart JA, Bourcier R, Sawada T, Koido M, Kamatani Y, Morel S, Amouyel P, Debette S, Bijlenga P, Berrandou T, Ganesh SK, Bouatia-Naji N, Jones G, Bown M, Rinkel GJE, Veldink JH, Ruigrok YM; HUNT All-In Stroke, CADISP group, International Consortium for Blood Pressure, International Headache Genetics Consortium, International Stroke Genetics Consortium (ISGC) Intracranial Aneurysm Working Group.

“Genetic Risk Score for Intracranial Aneurysms: Prediction of Subarachnoid Hemorrhage and Role in Clinical Heterogeneity.”

Stroke. 2023 Mar;54(3):810-818. doi: 10.1161/STROKEAHA.122.040715. Epub 2023 Jan 19. PMID: 36655558. [IF = 10.17]

Incerti I, Fusco M, Contarino VE, Siggillino S, Conte G, Lanfranconi S, Bertani GA, Gaudino C, d'Orio P, Pallini R, D'Alessandris QG, Meessen JMTA, Nicolis EB, Vasami A, Dejana E, Bianchi AM, Triulzi FM, Latini R, Scola E.

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

Eur Radiol. 2023 Jun;33(6):4158-4166. doi: 10.1007/s00330-022-09366-2. Epub 2023 Jan 5. PMID: 36602570. [IF = 5.9]

Abstract presentati a congressi scientifici nazionali e internazionali

Dario Ronchi, Sabrina Salani, Manuela Garbellini, Mily Stefany Hidalgo Moreno, Sara Antognozzi, Massimo Aureli, Stefania Corti and Giacomo Pietro Comi

Molecular and biochemical characterization of patient-derived cellular models for Spinal Muscular Atrophy with Myoclonus Epilepsy (SMA-PME)

XXIII Congresso Nazionale dell'Associazione Italiana di Miologia, Padova, 8-10 giugno 2023

Sara Antognozzi, Francesca Magri, Megi Meneri, Manuela Garbellini, Sabrina Salani, Francesco Fortunato, Michela Ripolone, Simona Zanotti, Patrizia Ciscato, Monica Sciacco, Valeria Parente, Stefania Corti, Giacomo Pietro Comi and Dario Ronchi

Expanding the spectrum of clinical presentations associated with COA8 pathogenic variants

XXIII Congresso Nazionale dell'Associazione Italiana di Miologia, Padova, 8-10 giugno 2023

Megi Meneri, Daniela Piga, Francesca Magri, Daniele Velardo, Patrizia Ciscato, Simona Zanotti, Monica Sciacco, Giacomo Pietro Comi and Dario Ronchi.

Clinico-pathologic features and molecular genetic spectrum in a cohort of adult patients with mtDNA maintenance disorders.

XXIII Congresso Nazionale dell'Associazione Italiana di Miologia, Padova, 8-10 giugno 2023

Francesca Magri, Sara Antognozzi, Megi Meneri, Francesco Fortunato, Manuela Garbellini, Michele Ripolone, Laura Napoli, Giacomo Pietro Comi and Dario Ronchi

Spastic paraparesis and myopathic signs associated to *POLRMT* mutations

XXIII Congresso Nazionale dell'Associazione Italiana di Miologia, Padova, 8-10 giugno 2023

Martina Rimoldi, Francesca Magri, Sara Antognozzi, Gloria Romagnoli, Daniele Velardo, Valeria Parente, Claudia Cinnante, Stefania Corti, Giacomo Pietro Comi, Dario Ronchi

A novel case of TRIM32-related limb girdle muscular dystrophy

XXIII Congresso Nazionale dell'Associazione Italiana di Miologia, Padova, 8-10 giugno 2023

Monica Sciacco, Sabrina Lucchiari, Manuela Garbellini, Giacomo. P. Comi, Dario Ronchi
Accidental LOPD diagnosis in a young man with no clinical and instrumental evidence of neuromuscular dysfunction

XXIII Congresso Nazionale dell'Associazione Italiana di Miologia, Padova, 8-10 giugno 2023

Sara Antognozzi, Megi Meneri, Francesca Magri, Manuela Garbellini, Sabrina Salani, Francesco Fortunato, Michela Ripolone, Simona Zanotti, Patrizia Ciscato, Monica Sciacco, Stefania Corti, Giacomo Pietro Comi and Dario Ronchi

Expanding the spectrum of clinical presentations associated with COA8 pathogenic variants

Euromit 2023, International Meeting on Mitochondrial Pathology, Bologna, 11-15 giugno 2023

Dario Ronchi, Megi Meneri, Francesca Magri, Francesca Menni, Manuela Garbellini, Maria Francesca Bedeschi, Robertino Dilella, Valeria Cecchetti, Irene Picciolli, Francesca Furlan, Valentina Polimeni, Sabrina Salani, Laura Pezzoli, Francesco Fortunato, Matteo Bellini, Sara Antognozzi, Daniela Piga, Michela Ripolone, Simona Zanotti, Laura Napoli, Patrizia Ciscato, Monica Sciacco, Giovanna Mangili, Fabio Mosca, Stefania Corti, Maria Iascone, Giacomo Pietro Comi

COX18 variants cause isolated Complex IV deficiency associated with neonatal hypertrophic cardiomyopathy, myopathy and axonal sensory neuropathy

Euromit 2023, International Meeting on Mitochondrial Pathology, Bologna, 11-15 giugno 2023

Marco Percetti, Giulia Franco, Edoardo Monfrini, Leonardo Caporali, Raffaella Minardi, Chiara La Morgia, Maria Lucia Valentino, Rocco Liguori, Iaria Palmieri, Donatella Ottaviani, Maria Vizziello, Dario Ronchi, Federica Di Berardino, Antoniangela Cocco, Bertil Macao, Maria Falkenberg, Giacomo Pietro Comi, Alberto Albanese, Bruno Giometto, Enza Maria Valente, Valerio Carelli, Alessio Di Fonzo

TWINK in Parkinson's disease: a Movement Disorder and Mitochondrial Disease Center perspective study

Euromit 2023, International Meeting on Mitochondrial Pathology, Bologna, 11-15 giugno 2023

E. Manzoni, P. Gaignard, L.D. Schlieben, S. Carli, M. Hirano, D. Ronchi, E. Gonzales, M. Shimura, K. Murayama, Y. Okazaki, I. Baric, D. Ramadza, D. Karall, J. Mayr, D. Martinelli, C. La Morgia, G.A. Primiano, R. Santer, S. Servidei, C. Bris, A. Cano, F. Furlan, S. Gasperini, N. Laborde, C. Lamperti, D. Lenz, M. Mancuso, F. Menni, O. Musumeci, V. Nesbitt, E. Procopio, C. Rouzier, C. Staufner, J.W. Taanman, G. Tal, C. Ticci, V. Carelli, V. Procaccio, H. Prokisch, C. Garone

Retrospective natural history of mitochondrial deoxyguanosine kinase deficiency: a worldwide cohort of 197 patients

Euromit 2023, International Meeting on Mitochondrial Pathology, Bologna, 11-15 giugno 2023

Martina Rimoldi, Manuela Garbellini, Francesca Magri, Francesca Menni, Megi Meneri, Maria Francesca Bedeschi, Robertino Dilella, Valeria Cecchetti, Irene Picciolli, Francesca Furlan, Valentina Polimeni, Sabrina Salani, Laura Pezzoli, Francesco Fortunato, Matteo Bellini, Daniela Piga, Michela Ripolone, Simona Zanotti, Laura Napoli, Patrizia Ciscato, Monica Sciacco, Giovanna Mangili, Fabio Mosca, Stefania Corti, Maria Iascone, and Giacomo Pietro Comi, Dario Ronchi

A biallelic variant in COX18 causes isolated complex IV deficiency associated with neonatal encephalo-cardio-myopathy and axonal sensory neuropathy

XXVI Congresso Nazionale Società Italiana genetica Umana (SIGU), Rimini, 4-6 ottobre 2023

Gloria Romagnoli, Martina Rimoldi, Francesca Magri, Sara Antognozzi, Daniele Velardo, Carola Rita Ferrari Aggradi, Claudia Cinnante, Stefania Corti, Giacomo Pietro Comi, Dario Ronchi

Lafora disease and Limb-Girdle Muscular Dystrophy R8: two distinct neurogenetic disorders with "TRIMuch" in common

XXVI Congresso Nazionale Società Italiana genetica Umana (SIGU), Rimini, 4-6 ottobre 2023

M.C. Russillo, C. Vinciguerra, A. Di Fonzo, E. Monfrini, D. Ronchi, S. Cuoco, G. Piscoquito, P. Barone, M. Pellecchia

A novel mutation in MFN2 is associated with ALS-FTD in an Italian family

53° Congresso Società Italiana di Neurologia, Napoli, 21-24 ottobre 2023

Giacomo Pietro Comi

Nuovi approcci terapeutici nelle distrofie muscolari dei cingoli

53° Congresso Società Italiana di Neurologia, Napoli, 21-24 ottobre 2023

G. Baso, C. Ferrari Aggradi, G. Furciniti, S. Mambriani, D. Iacobucci, D. Saccomanno, D. Velardo, S. Corti, G. Comi

Phenotypic spectrum of a series of temporally close cases of Guillain-Barré syndrome

53° Congresso Società Italiana di Neurologia, Napoli, 21-24 ottobre 2023

Caterina Lonati, Michele Battistin, Margherita Carbonaro, Lucrezia Magnini, Andrea Carlin, Samanta Oldoni, Dario Ronchi, Valentina Fonsato, Giovanni Camussi, Daniele Dondossola,

Trattamento del fegato durante NMP preclinica: riduzione del danno mitocondriale ischemico mediante somministrazione di vescicole extracellulari derivate da cellule staminali

46° Congresso Nazionale della Società Italiana dei Trapianti d'Organo e di Tessuti (SITO), Roma, 8-10 ottobre 2023.

Piga D, Zanotti S, Magri F, Salani S, Napoli L, Ripolone M, Fortunato F, Cassandrini D, Fattori F, D'Angelo MG, Albamonte E, Nigro V, Corti S, Comi GP.

Novel RYR1 pathological variants discovered in Italian patients with dusty core disease.

XXIII Congresso della Associazione Italiana di Miologia 8-10 Giugno 2023 Padova.

Collaborazioni scientifiche in atto con istituti nazionali ed internazionali

- Prof. Valerio Carelli, Università di Bologna
- Prof. Daniele Ghezzi, Istituto Neurologico Carlo Besta Milano
- Dott. Lorenzo Maggi, Istituto Neurologico Carlo Besta Milano
- Prof. Enrico Silvio Bertini, Ospedale Pediatrico Bambin Gesù
- Prof. Antonio Toscano, Università di Messina
- Prof. Michelangelo Mancuso, Università di Pisa
- Prof. Gabriele Siciliano, Università di Pisa
- Prof. Carlo Minetti, Università di Genova
- Prof. Paola Tonin, Università di Verona
- Prof. Serenella Servidei, Università Cattolica del Sacro Cuore
- Prof. Eugenio Mercuri, Fondazione Policlinico Universitario Agostino Gemelli IRCCS
- Prof. Carsten G. Bönnemann, NIH, Bethesda, USA
- Prof. Michio Hirano, Columbia University, New York, USA
- Prof. Connie Bezzina, Amsterdam UMC, Amsterdam, Olanda

Finanziamenti per progetti di ricerca ottenuti da enti pubblici o private

SEQMD ("Combining whole exome and RNA sequencing to identify genetic and molecular pathways in muscular disorders and to characterize patient cohorts for gene therapy"), programma di ricerca finanziato mediante il bando piattaforma "Call NGS Platform 2020" promosso dall'IRCCS Fondazione Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico.

Progetto "National Center for Gene Therapy and Drugs based on RNA Technology", codice identificativo MUR CN00000041 nell'ambito del PNRR Missione 4, Componente 2, Investimento 1.4 "Potenziamento strutture di ricerca e creazione di "campioni nazionali di R&S" su alcune Key

Enabling Technologies”. Topic: mRNA Therapeutics for the Treatment of Mitochondrial HepatoEncephalopathies.

LABORATORIO CELLULE STAMINALI NEURALI

RESPONSABILE:

Prof. Stefania Corti

MEDICI:

Dott. Delia Gagliardi

Dott. Elena Abati

Dott. Gianluca Costamagna

BIOLOGI:

Dott. Sabrina Salani

Dott. Federica Rizzo

Dott. Valeria Parente

Dott. Linda Ottoboni

Dott. Lorenzo Brambilla

Dott. Alessia Anastasia

Dott. Andrea D'Angelo

BIOTECNOLOGI:

Dott. Mafalda Rizzuti

Dott. Valentina Melzi

Dott. Noemi Galli

Dott. Elisa Pagliari

Dott. Luca Sali

Dott. Lorenzo Quetti

Dott. Francesca Beatrice

Dott. Francesca Sironi

Dott. Alberto Romano

BIOINFORMATICI:

Dott. Jessica Ongaro

TECNICI DI LABORATORIO:

Dott. Letizia Bertolasi

Il Laboratorio di Cellule Staminali Neurali svolge la propria attività di ricerca nell'ambito dello studio dei meccanismi patogenetici e dello 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). Al fine di analizzare i meccanismi molecolari delle patologie e le potenzialità terapeutiche delle nuove strategie sviluppate, sono utilizzati modelli cellulari *in vitro* 2D e 3D derivati da cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC) ottenute mediante la riprogrammazione di cellule somatiche adulte; tale strategia permette di poter utilizzare modelli cellulari paziente specifici. Le iPSC inoltre sono utilizzate come sorgente cellulare per strategie di tipo cellulo-mediato: il trapianto di cellule staminali risulta infatti essere un possibile approccio terapeutico per le malattie neurodegenerative, che agisce sia mediante la sostituzione cellulare che con meccanismi di tipo neuroprotettivo. Nel nostro laboratorio sono inoltre sviluppate strategie di terapia genica che prevedono l'utilizzo di vettori adeno-associati (AAV) e di terapia molecolare con oligonucleotidi antisenso con chimica morfolino (MO).

Sono qui presentati in sintesi i risultati ottenuti dalle nostre ricerche nel 2023.

Progressi nella genomica e trascrittomica della sclerosi laterale amiotrofica. (Rizzuti et al., 2023)

La sclerosi laterale amiotrofica (SLA) è una sindrome neurodegenerativa e la più frequente delle malattie del motoneurone. La SLA si manifesta con una sostanziale eterogeneità sia sul piano clinico che su quello molecolare. Modelli di malattia *in vitro* e *in vivo*, insieme a tecniche multiomiche, hanno offerto un importante contributo nello svelare i meccanismi patogenetici alla base della SLA. Ad oggi, malgrado i risultati promettenti raggiunti e la nostra sempre crescente conoscenza, non si ha ancora una cura efficace. In questo lavoro offriamo un resoconto della letteratura disponibile riguardo l'uso della genomica, dell'epigenomica, della trascrittomica e dei microRNA per investigare a fondo i meccanismi molecolari che comportano l'insorgere e il progredire della SLA. Qui riportiamo i geni più rilevanti implicati nella patogenesi della SLA, discutendo l'utilizzo di tecniche di sequenziamento high-throughput differenti e il ruolo delle modificazioni epigenomiche. Inoltre, presentiamo degli studi di trascrittomica mettendo in luce le scoperte più recenti, dai microarray fino al sequenziamento dell'RNA bulk e a singola cellula. Infine, discutiamo l'uso dei microRNA in qualità di potenziali biomarcatori e di candidati per una strategia terapeutica di tipo molecolare. L'integrazione dei dati ottenuti da approcci multiomici potrebbe fornirci nuove delucidazioni sui pathway patogenetici nella SLA e in particolare su biomarcatori diagnostici e prognostici, aiutandoci a stratificare i pazienti in sottogruppi clinici, a rivelare nuovi target terapeutici e a supportare lo sviluppo di terapie più efficaci.

Rizzuti M, Sali L, Melzi V, Scarcella S, Costamagna G, Ottoboni L, Quetti L, Brambilla L, Papadimitriou D, Verde F, Ratti A, Ticozzi N, Comi GP, Corti S, Gagliardi D.

Genomic and transcriptomic advances in amyotrophic lateral sclerosis.

Ageing Res Rev. 2023 Dec;92:102126. doi: 10.1016/j.arr.2023.102126. Epub 2023 Nov 14. PMID: 37972860.

La combinazione di RNA interference e terapia genica con target *MFN2* come prova di principio per il trattamento della Charcot-Marie-Tooth di tipo 2A. (Rizzo et al., 2023)

La Mitofusina-2 (MFN2) è una proteina della membrana mitocondriale esterna ed è essenziale per il funzionamento della rete mitocondriale nella maggior parte delle cellule. Mutazioni autosomiche dominanti nel gene MFN2 causano la malattia di Charcot-Marie-Tooth di tipo 2A (CMT2A), una grave e debilitante neuropatia sensitivo-motoria che impatta l'intero sistema nervoso. Qui proponiamo una nuova strategia terapeutica volta a correggere il difetto genetico causativo della CMT2A. Nonostante l'mRNA mutato e wild-type di *MFN2* vengano inibiti dall'RNA interference (RNAi), la proteina wild-type viene ripristinata sovraesprimendo il cDNA che codifica la MFN2

funzionale modificata per essere resistente all'RNAi. Abbiamo testato questa strategia in cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC) derivate da pazienti CMT2A e in motoneuroni (MN) generati dalle stesse, e abbiamo dimostrato il corretto silenziamento della MFN2 endogena e la sua sostituzione con la copia esogena del gene funzionale wild-type. Questo approccio ristabilisce in modo significativo il fenotipo dei MN CMT2A in vitro, stabilizzando l'alterata distribuzione dei mitocondri lungo gli assoni e correggendo gli anomali processi mitofagici. La correzione della MFN2 è stata anche confermata *in vivo* nel modello murino transgenico MitoCharc1 a seguito della somministrazione dei costrutti via fluido cerebrospinale (CSF) mediante virus adeno-associati di tipo 9 (AAV9) in topi appena nati. Tutto sommato, i nostri risultati supportano la fattibilità di una strategia terapeutica che combini l'RNAi con la terapia genica per il trattamento di un ampio spettro di malattie associate a mutazioni a carico di MFN2.

Rizzo F, Bono S, Ruepp MD, Salani S, Ottoboni L, Abati E, Melzi V, Cordiglieri C, Pagliarani S, De Gioia R, Anastasia A, Taiana M, Garbellini M, Lodato S, Kunderfranco P, Cazzato D, Cartelli D, Lonati C, Bresolin N, Comi G, Nizzardo M, Corti S.

Combined RNA interference and gene replacement therapy targeting MFN2 as proof of principle for the treatment of Charcot-Marie-Tooth type 2A.

Cell Mol Life Sci. 2023 Nov 25;80(12):373. doi: 10.1007/s00018-023-05018-w. PMID: 38007410; PMCID: PMC10676309.

Profiling multi-omico del CSF di pazienti con atrofia muscolare spinale di tipo 3 dopo trattamento con nusinersen: uno studio retrospettivo e multicentrico sui 2 anni di follow-up. (Faravelli et al., 2023)

L'atrofia muscolare spinale (SMA) è un disordine neurodegenerativo causato da mutazioni nel gene *SMN1* che comportano una riduzione nei livelli della proteina SMN. Nusinersen, il primo oligonucleotide antisense (ASO) approvato per la terapia della SMA, si lega al gene *SMN2* (paralogo di *SMN1*) e media la traduzione di una proteina SMN funzionante. In questo studio abbiamo utilizzato una longitudinal high-resolution mass spectrometry (MS) per analizzare sia il proteoma che il metaboloma presenti nel liquido cerebrospinale (CSF) prelevato da 10 pazienti SMA3, con l'obiettivo di ottenere nuove informazioni sulla farmacodinamica e marcatori predittivi della risposta alla terapia. I pazienti avevano un'età media di 33.5 anni [29.5; 38.25] e l'80% di essi deambulavano al momento del reclutamento, con uno score HFMSE medio di 37.5 [25.75; 50.75]. Le analisi di proteomica e metabolomica sui CSF sono state eseguite mediante high-resolution MS (nLC-HRMS) sui campioni ottenuti prima del trattamento (T0) e dopo 2 anni di follow-up (T22). A seguito della normalizzazione VSN e l'analisi differenziale con LIMMA, in tutto 26 proteine sono state trovate differenzialmente espresse nei replicati fra T0 e T22. In particolare, marcatori chiave del pathway dell'insulin-growth factor sono risultati upregolati dopo il trattamento, insieme a importanti fattori di regolazione della trascrizione. Tramite l'analisi CombiROC suggeriamo che la riduzione di SEMA6A e l'aumento di COL1A2 e GRIA4 potrebbe riflettere una efficacia terapeutica di nusinersen. I profili metabolomici, analizzati con il paired t-Test, mostrano come la terapia induca differenze significative in alcuni amminoacidi, viceversa non inficia su altri metaboliti. Questi risultati suggeriscono che le alterazioni indotte da nusinersen persistono anche dopo 22 mesi di follow-up e confermano l'utilità dell'analisi multi-omica sul CSF come biomarcatore farmacodinamico nei casi di SMA3. Ciononostante restano necessari studi di validazione per avvalorare tali evidenze in un numero più ampio di campioni e per meglio studiare combinazioni di marcatori della risposta alla terapia.

Faravelli I, Gagliardi D, Abati E, Meneri M, Ongaro J, Magri F, Parente V, Petrozzi L, Ricci G, Farè F, Garrone G, Fontana M, Caruso D, Siciliano G, Comi GP, Govoni A, Corti S, Ottoboni L.

Multi-omics profiling of CSF from spinal muscular atrophy type 3 patients after nusinersen treatment: a 2-year follow-up multicenter retrospective study.

Cell Mol Life Sci. 2023 Aug 5;80(8):241. doi: 10.1007/s00018-023-04885-7. PMID: 37543540; PMCID: PMC10404194.

Tecnologie omiche applicate ai trombi cerebrali nell'ambito della ricerca sull'ictus. (Costamagna et al., 2023)

Le malattie cerebrovascolari rappresentano una causa dominante di disabilità, morbidità e decesso in tutto il mondo. Nell'ultimo decennio, il progresso raggiunto nelle procedure endovascolari non solo ha migliorato il trattamento dell'ictus ischemico acuto, ma ha anche permesso di condurre analisi più approfondite sui trombi nei pazienti. Benché le analisi anatomopatologiche ed immunoistochimiche offrano importanti nozioni sulla composizione del trombo e la sua correlazione con le caratteristiche radiologiche, con la risposta alle terapie di riperfusione, e con l'eziologia dell'ictus, infatti, tali conoscenze sono piuttosto inconcludenti. Studi recenti applicano approcci single- o multi-omici - come la proteomica, la metabolomica, la trascrittomica, o una combinazione di queste - per investigare la composizione del coagulo e i meccanismi alla base dell'ictus, con un alto potere predittivo. Nello specifico, uno studio pilota ha dimostrato che una caratterizzazione approfondita dei trombi causanti ictus può essere più rilevante rispetto ai classici biomarcatori clinici nel definire i meccanismi dell'ictus. La scarsità nel numero di campioni, le diverse metodologie esistenti e la mancanza di un metodo per gestire eventuali fattori confondenti rappresentano possibili ostacoli nella standardizzazione di queste scoperte. Tuttavia, queste tecnologie hanno un grande potenziale nell'indagine sulla trombogenesi legata all'ictus e nella selezione di strategie di prevenzione, oltre che nell'identificazione di nuovi biomarcatori e target terapeutici. In questa review abbiamo riassunto le scoperte più recenti descrivendone i punti di forza e i limiti, presentando dunque le prospettive future in quest'ambito.

Costamagna G, Bonato S, Corti S, Meneri M.

Advancing Stroke Research on Cerebral Thrombi with Omic Technologies.

Int J Mol Sci. 2023 Feb 8;24(4):3419. doi: 10.3390/ijms24043419. PMID: 36834829; PMCID: PMC9961481.

Caratteristiche cliniche e molecolari di pazienti con sclerosi laterale amiotrofica e mutazioni in *SOD1*: uno studio monocentrico. (Gagliardi et al., 2023)

SOD1 fu il primo gene ad essere associato con forme familiari e sporadiche di sclerosi laterale amiotrofica (SLA) ed è il secondo gene maggiormente mutato nei pazienti SLA caucasici. Considerata l'importante eterogeneità sia clinica che molecolare che sussiste fra i pazienti con SLA-*SOD1*, una loro caratterizzazione dettagliata potrebbe migliorare le nostre conoscenze circa la storia naturale di tale malattia. Qui gli autori miravano a fornire una descrizione clinica e molecolare di una coorte monocentrica di pazienti SLA-*SOD1*. I pazienti SLA in cura nel nostro reparto di neurologia fra il 2008 e il 2021 sono stati valutati da un punto di vista clinico e poi testati per mutazioni in *SOD1*. La patogenicità delle così identificate varianti di *SOD1* è stata determinata mediante studi di segregazione condotti sui familiari disponibili e analisi *in silico*. Fra i 576 pazienti nella nostra coorte abbiamo individuato 19 soggetti affetti da una mutazione in *SOD1* (3.3%), di cui 15 (78.9%) presentavano una forma familiare mentre 4 (21.1%) una forma sporadica. Tutti i pazienti hanno manifestato il coinvolgimento del midollo spinale e si è registrato un tasso di sopravvivenza estremamente variabile, che spazia dagli 8 mesi fino ai 30 anni. All'interno della coorte abbiamo identificato 12 diverse varianti missenso a carico del gene *SOD1*, compresa una nuova mutazione (p.Pro67Leu). In questo studio abbiamo dunque presentato una prima descrizione di una coorte italiana e monocentrica di pazienti con SLA-*SOD1*, e abbiamo ampliato il nostro repertorio di mutazioni in *SOD1*. La nostra coorte ha mostrato caratteristiche rimarcabili quali espressività variabile all'interno della stessa famiglia, manifestazioni cliniche atipiche (atassia, disfunzioni cognitive ed altri sintomi extra-motori), e diversi modi di ereditarietà di una mutazione nella stessa famiglia. Data la recente approvazione dell'uso di oligonucleotidi antisense diretti contro *SOD1* nei pazienti SLA-*SOD1*, raccomandiamo di caldeggiare lo screening per mutazioni in *SOD1* nei nuovi pazienti che presentano forme familiari o sporadiche di SLA.

Gagliardi D, Ripellino P, Meneri M, Del Bo R, Antognozzi S, Comi GP, Gobbi C, Ratti A, Ticozzi N, Silani V, Ronchi D, Corti S.

Clinical and molecular features of patients with amyotrophic lateral sclerosis and SOD1 mutations: a monocentric study.

Front Neurol. 2023 May 17;14:1169689. doi: 10.3389/fneur.2023.1169689. PMID: 37265463; PMCID: PMC10230028.

Pubblicazioni scientifiche su riviste peer-reviewed CORTI

1. Rizzuti M, Sali L, Melzi V, Scarcella S, Costamagna G, Ottoboni L, Quetti L, Brambilla L, Papadimitriou D, Verde F, Ratti A, Ticozzi N, Comi GP, Corti S, Gagliardi D.

Genomic and transcriptomic advances in amyotrophic lateral sclerosis.

Ageing Res Rev. 2023 Dec;92:102126. doi: 10.1016/j.arr.2023.102126. Epub 2023 Nov 14. PMID: 37972860.

2. Rizzo F, Bono S, Ruepp MD, Salani S, Ottoboni L, Abati E, Melzi V, Cordiglieri C, Pagliarani S, De Gioia R, Anastasia A, Taiana M, Garbellini M, Lodato S, Kunderfranco P, Cazzato D, Cartelli D, Lonati C, Bresolin N, Comi G, Nizzardo M, Corti S.

Combined RNA interference and gene replacement therapy targeting MFN2 as proof of principle for the treatment of Charcot-Marie-Tooth type 2A.

Cell Mol Life Sci. 2023 Nov 25;80(12):373. doi: 10.1007/s00018-023-05018-w. PMID: 38007410; PMCID: PMC10676309.

3. Faravelli I, Gagliardi D, Abati E, Meneri M, Ongaro J, Magri F, Parente V, Petrozzi L, Ricci G, Farè F, Garrone G, Fontana M, Caruso D, Siciliano G, Comi GP, Govoni A, Corti S, Ottoboni L.

Multi-omics profiling of CSF from spinal muscular atrophy type 3 patients after nusinersen treatment: a 2-year follow-up multicenter retrospective study.

Cell Mol Life Sci. 2023 Aug 5;80(8):241. doi: 10.1007/s00018-023-04885-7. PMID: 37543540; PMCID: PMC10404194.

4. Costamagna G, Bonato S, Corti S, Meneri M.

Advancing Stroke Research on Cerebral Thrombi with Omic Technologies.

Int J Mol Sci. 2023 Feb 8;24(4):3419. doi: 10.3390/ijms24043419. PMID: 36834829; PMCID: PMC9961481.

5. Gagliardi D, Ripellino P, Meneri M, Del Bo R, Antognozzi S, Comi GP, Gobbi C, Ratti A, Ticozzi N, Silani V, Ronchi D, Corti S.

Clinical and molecular features of patients with amyotrophic lateral sclerosis and SOD1 mutations: a monocentric study.

Front Neurol. 2023 May 17;14:1169689. doi: 10.3389/fneur.2023.1169689. PMID: 37265463; PMCID: PMC10230028.

In collaborazione con Laboratorio biochimica e genetica

Meneri M, Abati E, Gagliardi D, Faravelli I, Parente V, Ratti A, Verde F, Ticozzi N, Comi GP, Ottoboni L, Corti S.

Identification of Novel Biomarkers of Spinal Muscular Atrophy and Therapeutic Response by Proteomic and Metabolomic Profiling of Human Biological Fluid Samples.

Biomedicines. 2023 Apr 23;11(5):1254. doi: 10.3390/biomedicines11051254. PMID: 37238925; PMCID: PMC10215459.

Manini A, Gagliardi D, Meneri M, Antognozzi S, Del Bo R, Comi GP, Corti S, Ronchi D.

NOTCH2NLC GGC repeats are not expanded in Italian amyotrophic lateral sclerosis patients.

Sci Rep. 2023 Feb 23;13(1):3187. doi: 10.1038/s41598-023-30393-6. PMID: 36823368; PMCID: PMC9950471.

Ferrari Aggradi CR, Rimoldi M, Romagnoli G, Velardo D, Meneri M, Iacobucci D, Ripolone M, Napoli L, Ciscato P, Moggio M, Comi GP, Ronchi D, Corti S, Abati E. Lafora Disease: A Case Report and Evolving Treatment Advancements. *Brain Sci.* 2023 Dec 6;13(12):1679. doi: 10.3390/brainsci13121679. PMID: 38137127; PMCID: PMC10742041.

Zanotti S, Magri F, Salani S, Napoli L, Ripolone M, Ronchi D, Fortunato F, Ciscato P, Velardo D, D'Angelo MG, Gualandi F, Nigro V, Sciacco M, Corti S, Comi GP, Piga D. Extracellular Matrix Disorganization and Sarcolemmal Alterations in COL6-Related Myopathy Patients with New Variants of COL6 Genes. *Int J Mol Sci.* 2023 Mar 14;24(6):5551. doi: 10.3390/ijms24065551. PMID: 36982625; PMCID: PMC10059973.

Pezzoni L, Brusa R, Difonzo T, Magri F, Velardo D, Corti S, Comi GP, Saetti MC. Cognitive abnormalities in Becker muscular dystrophy: a mysterious link between dystrophin deficiency and executive functions. *Neurol Sci.* 2023 Nov 15. doi: 10.1007/s10072-023-07169-x. Epub ahead of print. PMID: 37968431.

Rimoldi M, Magri F, Antognozzi S, Ripolone M, Salani S, Piga D, Bertolasi L, Zanotti S, Ciscato P, Fortunato F, Moggio M, Corti S, Comi GP, Ronchi D. Prominent muscle involvement in a familial form of mitochondrial disease due to a COA8 variant. *Front Genet.* 2023 Nov 30;14:1278572. doi: 10.3389/fgene.2023.1278572. PMID: 38098475; PMCID: PMC10720436.

Velardo D, Antognozzi S, Rimoldi M, Pagliarani S, Cogiamanian F, Barbieri S, Corti S, Comi GP, Ronchi D. Case report: Clinical and molecular characterization of two siblings affected by Brody myopathy. *Front Neurol.* 2023 Jun 2;14:1170071. doi: 10.3389/fneur.2023.1170071. PMID: 37332993; PMCID: PMC10272758.

Magri F, Napoli L, Ripolone M, Ciscato P, Moggio M, Corti S, Comi GP, Sciacco M, Zanotti S. The Profiling of 179 miRNA Expression in Serum from Limb Girdle Muscular Dystrophy Patients and Healthy Controls. *Int J Mol Sci.* 2023 Dec 12;24(24):17402. doi: 10.3390/ijms242417402. PMID: 38139231; PMCID: PMC10743601.

Ronchi D, Garbellini M, Magri F, Menni F, Meneri M, Bedeschi MF, Dilella R, Cecchetti V, Picciolli I, Furlan F, Polimeni V, Salani S, Pezzoli L, Fortunato F, Bellini M, Piga D, Ripolone M, Zanotti S, Napoli L, Ciscato P, Sciacco M, Mangili G, Mosca F, Corti S, Iascone M, Comi GP. A biallelic variant in COX18 cause isolated Complex IV deficiency associated with neonatal encephalo-cardio-myopathy and axonal sensory neuropathy. *Eur J Hum Genet.* 2023 Dec;31(12):1414-1420. doi: 10.1038/s41431-023-01433-6. Epub 2023 Jul 19. PMID: 37468577; PMCID: PMC10689781.

Scarcella S, Dell'Arti L, Gagliardi D, Magri F, Govoni A, Velardo D, Mainetti C, Minorini V, Ronchi D, Piga D, Comi GP, Corti S, Meneri M. Ischemic optic neuropathy as first presentation in patient with m.3243 A > G MELAS classic mutation. *BMC Neurol.* 2023 Apr 24;23(1):165. doi: 10.1186/s12883-023-03198-3. PMID: 37095452; PMCID: PMC10123965.

Furciniti G, Casalino G, Lo Russo FM, Bolli N, Meneri M, Comi GP, Corti SP, Velardo D. *Unraveling the Neurological Complexity of Polyneuropathy, Organomegaly, Endocrinopathy, Monoclonal Protein, and Skin Changes Syndrome: A Report of a Challenging Case of a Young Woman and Cutting-Edge Advancements in the Field.*

Diseases. 2023 Nov 10;11(4):167. doi: 10.3390/diseases11040167. PMID: 37987277; PMCID: PMC10660769.

In collaborazione con Laboratorio Neuromuscolare

Zanotti S, Ripolone M, Napoli L, Velardo D, Salani S, Ciscato P, Priori S, Kukavica D, Mazzanti A, Diamanti L, Vegezzi E, Moggio M, Corti S, Comi G, Sciacco M.

Characterization of Skeletal Muscle Biopsy and Derived Myoblasts in a Patient Carrying Arg14del Mutation in Phospholamban Gene.

Cells. 2023 May 17;12(10):1405. doi: 10.3390/cells12101405. PMID: 37408239; PMCID: PMC10216566.

Ripolone M, Zanolini S, Napoli L, Ronchi D, Ciscato P, Comi GP, Moggio M, Sciacco M. *MERRF Mutation A8344G in a Four-Generation Family without Central Nervous System Involvement: Clinical and Molecular Characterization.*

J Pers Med. 2023 Jan 11;13(1):147. doi: 10.3390/jpm13010147. PMID: 36675808.

In collaborazione con altri gruppi di ricerca

Comfort N, Gade M, Strait M, Merwin SJ, Antoniou D, Parodi C, Marcinczyk L, Jean-Francois L, Bloomquist TR, Memou A, Rideout HJ, Corti S, Kariya S, Re DB. Longitudinal transcriptomic analysis of mouse sciatic nerve reveals pathways associated with age-related muscle pathology. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2023 Jun;14(3):1322-1336. doi: 10.1002/jcsm.13204. Epub 2023 Mar 10. PMID: 36905126; PMCID: PMC10235898.

Pane M, Berti B, Capasso A, Coratti G, Varone A, D'Amico A, Messina S, Masson R, Sansone VA, Donati MA, Agosto C, Bruno C, Ricci F, Pini A, Gagliardi D, Filosto M, Corti S, Leone D, Palermo C, Onesimo R, De Sanctis R, Ricci M, Bitetti I, Sframeli M, Dosi C, Albamonte E, Ticci C, Brolatti N, Bertini E, Finkel R, Mercuri E; ITASMAc group. Onasemnogene abeparvovec in spinal muscular atrophy: predictors of efficacy and safety in naïve patients with spinal muscular atrophy and following switch from other therapies. *EClinicalMedicine.* 2023 May 5;59:101997. doi: 10.1016/j.eclinm.2023.101997. PMID: 37197706; PMCID: PMC10184045.

Ricci M, Cicala G, Capasso A, Coratti G, Fiori S, Cutrona C, D'Amico A, Sansone VA, Bruno C, Messina S, Mongini T, Coccia M, Siciliano G, Pegoraro E, Masson R, Filosto M, Comi GP, Corti S, Ronchi D, Maggi L, D'Angelo MG, Vacchiano V, Ticci C, Ruggiero L, Verriello L, Ricci FS, Berardinelli AL, Maioli MA, Garibaldi M, Nigro V, Previtali SC, Pera MC, Tizzano E, Pane M, Tiziano FD, Mercuri E; ITASMAC Working Group. Clinical Phenotype of Pediatric and Adult Patients With Spinal Muscular Atrophy With Four SMN2 Copies: Are They Really All Stable? *Ann Neurol.* 2023 Dec;94(6):1126-1135. doi: 10.1002/ana.26788. Epub 2023 Sep 22. PMID: 37695206.

Maranzano A, Verde F, Colombo E, Poletti B, Doretto A, Bonetti R, Gagliardi D, Meneri M, Maderna L, Messina S, Corti S, Morelli C, Silani V, Ticozzi N.

Regional spreading pattern is associated with clinical phenotype in amyotrophic lateral sclerosis. **Brain.** 2023 Oct 3;146(10):4105-4116. doi: 10.1093/brain/awad129. PMID: 37075222; PMCID: PMC10545526.

Colombo E, Doretto A, Scheveger F, Maranzano A, Pata G, Gagliardi D, Meneri M, Messina S, Verde F, Morelli C, Corti S, Maderna L, Silani V, Ticozzi N.

Correlation between clinical phenotype and electromyographic parameters in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol.* 2023 Jan;270(1):511-518. doi: 10.1007/s00415-022-11404-4. Epub 2022 Oct 2. Erratum in:

J Neurol. 2023 Jun;270(6):3286-3287. PMID: 36183286; PMCID: PMC9813173.

Colombo E, Gentile F, Maranzano A, Doretto A, Verde F, Olivero M, Gagliardi D, Faré M, Meneri M, Poletti B, Maderna L, Corti S, Corbo M, Morelli C, Silani V, Ticozzi N.

The impact of upper motor neuron involvement on clinical features, disease progression and prognosis in amyotrophic lateral sclerosis.

Front Neurol. 2023 Sep 26;14:1249429. doi: 10.3389/fneur.2023.1249429. PMID: 37822527; PMCID: PMC10562695.

Abstract presentati a congressi scientifici internazionali

1. Elena Abati, Silvia Bono, Marc-David Ruepp, Sabrina Salani, Linda Ottoboni, Valentina Melzi, Valeria Parente, Chiara Cordiglieri, Sabrina Pagliarani, Roberta De Gioia, Alessia Anastasia, Michela Taiana, Garbellini Manuela, Simona Lodato, Paolo Kunderfranco, Cazzato Daniele, Cartelli Daniele, Lonati Chiara, Nereo Bresolin, Giacomo Comi, Monica Nizzardo, Stefania Corti, Federica Rizzo. *Combined RNA interference and gene replacement therapy targeting MFN2 for the treatment of Charcot-Marie-Tooth type 2A*. 1st European Charcot-Marie-Tooth Specialist's Conference, 9-10/06/2023, Parigi, Francia.
2. Elisa Pagliari, Alessia Anastasia, Manuela Garbellini, Valentina Melzi, Floriana Bellandi, Michela Taiana, Giacomo P. Comi, Stefania P. Corti, Monica Nizzardo. *Systemic AAV9-IGHMBP2 Gene Therapy Administration Ameliorates Disease Phenotype in Symptomatic Spinal Muscular Atrophy with Respiratory Distress Type 1 (SMARD1) Mice*. American Society of Gene&Cell Therapy, 16-20/05/2023, Los Angeles, LA, USA.
3. Elena Abati, Silvia Bono, Marc-David Ruepp, Sabrina Salani, Linda Ottoboni, Valentina Melzi, Chiara Cordiglieri, Sabrina Pagliarani, Roberta De Gioia, Alessia Anastasia, Michela Taiana, Manuela Garbellini, Simona Lodato, Paolo Kunderfranco, Daniele Cazzato, Daniele Cartelli, Caterina Lonati, Nereo Bresolin, Giacomo Comi, Monica Nizzardo, Stefania Corti, Federica Rizzo. *Combined RNA interference and gene replacement therapy targeting MFN2 for the treatment of Charcot-Marie-Tooth type 2A*. Peripheral Nerve Society (PNS) Annual Meeting, 17-20/06/2023, Copenhagen, Danimarca.
4. Noemi Galli, Mafalda Rizzuti, Jessica Ongaro, Valentina Melzi, Linda Ottoboni, Monica Nizzardo, Giacomo Comi, Stefania Corti. *OMIC characterization of patient-derived spinal cord organoids to assess novel genes associated with C9orf72-Amyotrophic Lateral Sclerosis*. ENCALS 11-14/07/2023, Barcelona, Spagna.
5. Delia Galiardi N, Andrea D'Angelo, Francesca Beatrice, Paola Rinchetti, Chiara Cordiglieri, Giacomo Pietro Comi, Monica Nizzardo, Linda Ottoboni, Stefania Corti. *3D in vitro brain and spinal cord cell models to identify early neuronal vulnerability and test therapies in C9orf72-Amyotrophic Lateral Sclerosis*. ENCALS 11-14/07/2023, Barcelona, Spagna.
6. Gioia Cappelletti, Lorenzo Brambilla, Valentina Melzi, Mafalda Rizzuti, Monica Nizzardo, Stefania Corti, Mario Clerici, Mara Biasin. *SARS-CoV-2 infection and Spike protein exposure alter iPSC-derived human brain organoid homeostasis*. Immunology, 11-15/05/2023 Washington D.C., USA.
7. Gioia Cappelletti, Lorenzo Brambilla, Valentina Melzi, Mafalda Rizzuti, Monica Nizzardo, Stefania Corti, Mario Clerici, Mara Biasin. *SARS-CoV-2 infection and Spike protein exposure alter iPSC-derived human brain organoid homeostasis*. 12th IAS Conference on HIV Science, 23-26/07/2023 Brisbane, Australia.
8. Andrea D'Angelo, Francesca Beatrice, Jessica Ongaro, Paola Rinchetti, Irene Faravelli, Matteo Miotto, Simona Lodato, Monica Nizzardo, Giacomo Pietro Comi, Linda Ottoboni, Stefania Corti. *Three dimension stem cell spinal cord model to study the therapeutic mechanisms of risdiplam-like compound for spinal muscular atrophy*. Society for Neuroscience (SFN) Annual Meeting, 11-15/11/2023, Washington D.C., USA.
9. Beatriz Furones Cuadrado, Lorenzo Brambilla, Lorenzo Quetti, Andrea D'Angelo, Chiara Rosa Battaglia, Gabriela Fioreze, Stefania Corti. *Probing and analyzing the activity of brain organoids with advanced high dense microchip technology*. CAOS - Conference on Advancements in Organoid Sciences, 26-27/1/2023, Hamburg, Germany.

10. Beatriz Furones Cuadrado, Lorenzo Brambilla, Lorenzo Quetti, Andrea D'Angelo, Chiara Rosa Battaglia, Gabriela Fioreze, Stefania Corti. *Probing and analyzing the activity of brain organoids with advanced high dense microchip technology*. ISSCR - International Society of Stem Cell Research, 14-17/6/2023, Boston, USA.

Abstract presentati a congressi scientifici nazionali

1. Alessia Anastasia, Linda Ottoboni, Silvia Bono, Sabrina Salani, Valentina Melzi, Sabrina Pagliarani, Elena Abati, Giacomo Comi, Stefania Corti, Federica Rizzo. *A potential therapeutic strategy for CMT2A: combined RNA interference and gene therapy in vitro and in vivo disease models*. BraYn 6th Brainstorming Research Assembly for Young Neuroscientists, 27-29/09/2023, Napoli.

2. Lorenzo Brambilla, Mafalda Rizzuti, Valentina Melzi, Noemi Galli, Sabrina Salani, Jessica Ongaro, Linda Ottoboni, Chiara Cordiglieri, Stefania Magri, Caterina Mariotti, Giacomo Pietro Comi, Franco Taroni, Stefania Corti. *Brain organoids: a promising approach to investigate neurodegeneration in MSA-C and SCA2*. BraYn 6th Brainstorming Research Assembly for Young Neuroscientists, 27-29/09/2023, Napoli.

3. Lorenzo Quetti, Luca Sali, Jessica Ongaro, Francesca Sironi, Matilde Contardo, Roberta De Gioia, Elena Abati, Monica Nizzardo, Linda Ottoboni, Federica Rizzo, Stefania Corti, Giacomo Pietro Comi. *A Novel Neural Stem Cell Therapy Targeting Upper Motor Neurons Provides Better Outcomes in Amyotrophic Lateral Sclerosis Mice Models*. BraYn 6th Brainstorming Research Assembly for Young Neuroscientists, 27-29/09/2023, Napoli.

4. Luca Sali, Lorenzo Quetti, Pagliari E, Taiana M., Melzi V., Garbellini M., Comi GP., Corti S., Nizzardo M., Rizzo F. *Corroboration of Stathmin-2 in Human and Murine Models of Spinal Muscular Atrophy as Potential Therapy Target*. BraYn 6th Brainstorming Research Assembly for Young Neuroscientists, 27-29/09/2023, Napoli.

5. Andrea D'Angelo, Francesca Beatrice, Jessica Ongaro, Paola Rinchetti, Irene Faravelli, Matteo Miotto, Simona Lodato, Monica Nizzardo, Giacomo Pietro Comi, Linda Ottoboni, Stefania Corti. *Three dimension stem cell spinal cord model to study the therapeutic mechanisms of risdiplam-like compound for spinal muscular atrophy*. BraYn 6th Brainstorming Research Assembly for Young Neuroscientists, 27-29/09/2023, Napoli.

6. Andrea D'Angelo, Francesca Beatrice, Chiara Cordiglieri, Gabriela Tondolo-Fioreze, Rosa Maria Silipigni, Linda Ottoboni, Stefania Corti. *Generation of Human 3D Neural-Muscle assembloids to investigate pathogenesis and potential therapeutics for Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS)*. 20th National Congress of the Italian Society for Neuroscience, 14-17/09/2023, Torino.

7. Mafalda Rizzuti, Delia Gagliardi, Valentina Melzi, Pegah Masrori, Linda Ottoboni, Francesca Sironi, Megi Meneri, Giacomo Pietro Comi, Philip Van Damme, Federico Verde, Nicola Ticozzi, Vincenzo Silani, Stefania Corti. *Integrated miRNA Profiling for ALS Diagnosis and Therapeutic Targeting*. Annual Meeting della rete IRCCS di Neuroscienze e Neuroriabilitazione (RIN), dal 30/11/2023 al 17/12/2023, Roma.

8. Sara Bonato, Gianluca Costamagna Gianluca, Isabella Ghione, Silvia Lanfranconi, Megi Meneri, Stefania Corti, Giacomo P. Comi. *Acute ischemic stroke patients treated with endovascular thrombectomy with and without intravenous thrombolysis: demographic, clinical, laboratory, radiological characteristics and histopathological and omics analysis of thrombi*. Annual Meeting della rete IRCCS di Neuroscienze e Neuroriabilitazione (RIN), dal 30/11/2023 al 17/12/2023, Roma.

9. Noemi Galli, Michela Taiana, Andrea D'Angelo, Jimmy Beckers, Margherita Bersani, Francesca Sironi, Delia Gagliardi, Marisa Cappella, Philip Van Damme, Tania Gendron, Antonia Ratti, Monica Nizzardo, Stefania Corti. *Morpholino antisense oligonucleotides rescue pathological hallmark features in C9orf72 ALS in vitro models*. International Oligonucleotide and Peptides Conferences, 6-7/06/2023, Milano.

10. Elisa Pagliari, Michela Taiana, Lorenzo Quetti, Luca Sali, Noemi Galli, Valentina Melzi, Manuela Garbellini, Giacomo P Comi, Stefania Corti, Monica Nizzardo, Federica Rizzo. *Gene replacement*

therapy targeting Statmin2 for the treatment of Spinal Muscular Atrophy. International Oligonucleotide and Peptides Conferences, 6-7/06/2023, Milano.

11. Elena Abati, Silvia Bono, Marc-David Ruepp, Sabrina Salani, Linda Ottoboni, Valentina Melzi, Chiara Cordiglieri, Sabrina Pagliarani, Roberta De Gioia, Alessia Anastasia, Michela Taiana, Garbellini M, Simona Lodato, Paolo Kunderfranco, Daniele Cazzato, Daniele Cartelli, Caterina Lonati, Nereo Bresolin, Giacomo Comi, Monica Nizzardo, Stefania Corti, Federica Rizzo. *Combined RNA interference and gene replacement therapy targeting MFN2 for the treatment of Charcot-Marie-Tooth type 2A*. Tredicesima riunione annuale dell'Associazione Italiana per lo studio del sistema nervoso periferico 25-27/5/2023, Napoli.

12. Piga Daniela, Zanotti Simona, Magri Francesca, Salani Sabrina, Napoli Laura, Ripolone Michela, Fortunato Francesco, Cassandrini Denis, Fattori Fabiana, D'Angelo Maria Grazia; Albamonte Emilio; Nigro Vincenzo; Corti Stefania; Comi Giacomo Pietro. *Novel RYR1 pathological variants discovered in italian patients with dusty core disease*. XXIII Congresso Nazionale Associazione italiana di Miologia 8-10/6/2023, Padova.

13. Federica Rizzo F, Silvia Bono, Mark D Ruepp, Sabrina Salani, Linda Ottoboni, Elena Abati, Valentina Melzi, Chiara Cordiglieri, Serena Pagliarani, Roberta De Gioia R, Alessia Anastasia, Michela Taiana, Manuela Garbellini, Simona Lodato, Paolo Kunderfranco P, Daniele Cazzato, Daniele Cartelli, Caterina Lonati, Nereo Bresolin, Giacomo Comi, Monica Nizzardo, Stefania Corti S. *Unravelling combined RNA interference and gene therapy in vitro and in vivo disease models as a potential therapeutic strategy for CMT2A*. XXIII Congresso Nazionale Associazione italiana di Miologia 8-10/6/2023, Padova.

14. Andrea D'Angelo, Francesca Beatrice, Paola Rinchetti, Irene Faravelli, Matteo Miotto, Simona Lodato, Monica Nizzardo, Federica Rizzo, Linda Ottoboni, Stefania Corti. *3D-stem cell spinal cord model to study the therapeutic mechanisms of risdiplam-like compound for Spinal Muscular Atrophy*. XXIII Congresso Nazionale Associazione italiana di Miologia 8-10/6/2023, Padova.

15. Andrea D'Angelo, Paola Rinchetti, Irene Faravelli, Matteo Miotto, Simona Lodato, Monica Nizzardo, Federica Rizzo, Linda Ottoboni, Stefania Corti. *3D-stem cell spinal cord model to study the therapeutic mechanisms of risdiplam-like compound for Spinal Muscular Atrophy*. 53 Congresso Società Italiana di Neurologia 21-24/10/2023, Napoli.

Collaborazioni scientifiche in atto con istituti nazionali ed internazionali

RISE CROSS-NEUROD — 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, Prof. S. Przedborski, director of the Center, and Prof. D. Re.

“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.

“Studio di oligonucleotidi coniugati con peptidi per lo sviluppo di una strategia terapeutica della SMA”, Prof. H. Moulton Oregon University.

“Basi Molecolari della Sclerosi Laterale Amiotrofica” SLAGEN consortium.

“European ALS population study”, EURALS Consortium.

“Sviluppo di una strategia terapeutica per mitofusino-patie” in collaborazione con l'Associazione Mitofusina 2 (<http://www.progettomitofusina2.com/it/associazione>).

ALS molecular therapy exploiting integrated small RNAs analysis of patient-derived induced pluripotent stem cells, Prof. S. Barabino, Università degli Studi di Milano-Bicocca.

“MicroRNA profiling in iPSCs from an infantile ascending hereditary spastic paralysis patient reveals miR-376a, miR-432 and miR-451a involvement in neuronal differentiation: possible implications for motor neuron disease pathogenesis”, Dr. Bernasconi e Dr. Marcuzzo, Istituto Neurologico Besta.

“*C. Elegans* per lo studio di modificatori genetici della SMA e della SLA”, Dr. Di Schiavi, CNR di Napoli.

Prof. Antonia Ratti, Department of Neurology - Stroke Unit and Laboratory of Neuroscience, Istituto Auxologico Italiano, IRCCS, Milano.

Prof. Jeroen Pasterkamp, Department of Translational Neuroscience, UMC Utrecht.

Prof. Michela Deleidi, Institut Imagine, Parigi, Francia

Prof. Philip Van Damme, University of Leuven.

Prof. Stefano Stifani, Montreal Neurological Institute of McGill University, Canada.

Prof. Francesco Lotti, PhD, Assistant Professor, Center for Motor Neuron Biology and Disease, Columbia University Medical Center, New York, NY 10032, USA.

Prof. Valentina Bollati, Dipartimento di Scienze Cliniche e di Comunità, Università degli Studi di Milano, Milano.

Dr. Simona Lodato, Humanitas Research Center, Milano.

Dr. Piera Smeriglio, Centre De Recherche En Myologie, Parigi, Francia.

MANAVA Plus, Milano, Italia.

Italfarmaco, Milano, Italia.

Prof. Marco Onorati, Università' di Pisa, Pisa.

Prof. Luciano Conti, Università' di Trento, Trento.

Dr. Enrico Bertini, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù di Roma.

Prof. Alessandro Usiello, Università' della Campania-Vanvitelli, Caserta.

Prof. Luigi Zeni, Università' della Campania-Vanvitelli, Caserta.

Prof. Grazia Daniela Raffa, Università' La Sapienza, Roma.

Prof. Carlo Viscomi, Università' di Padova.

Finanziamenti per progetti di ricerca ottenuti da enti pubblici o privati

1. Fondazione Regionale per la Ricerca Biomedica (FRRB) (2020-2023). An integrated omics approach for patients with rare neurological disorders: towards personalized clinical care and trial readiness (Care4NeuroRare). Leader.
2. SwanBio Therapeutics (2020-2023). Sponsored research agreement on MFN2 gene therapy development. Leader.
3. Roche no profit Grant (2023-2025). Unravelling Risdiplamn therapeutic effect on SMA 3D human stem cell neuromuscular unit. Leader.
4. Italfarmaco spa, contratto di ricerca commissionata (2021-2023). La caratterizzazione di inibitori di HDAC-6 in modelli *in vitro* e *in vivo* di CMT2A.

5. Progetto Bando Interno Policlinico (2022-2025). 3D modelling of neuromuscular unit to discover pathogenetic mechanisms and therapeutics for motor neuron diseases. Leader. Leader.
6. Progetto5X1000 Policlinico (2023). Il ruolo del microcircolo nelle malattie neurologiche.
7. Ministero della Salute, Ricerca Finalizzata (2018-2023). "Novel stem cell therapy for amyotrophic lateral sclerosis targeting upper motor neurons" (RF-2016-02362317). Leader.
8. Fondazione Cariplo (2022-2024). "Stathmin-2 in Spinal Muscular Atrophy (SMA): assessing molecular and therapeutic role in SMA human and murine models" (2020-2023). Leader.
9. Unione Europea H2020-MSCA-RISE 2017 (2017-2023). "Transferring autonomous and nonautonomous cell degeneration 3D models between EU and USA for development of effective therapies for neurodegenerative diseases (ND) CROSS-NEUROD. HORIZONPEOPLE-2017-RISE. Leader.
10. Erare grant (2019-2023). INTEGRative multi-OMICS approaches on iPSCderived 2D and 3D models to elucidate the role of immune and energy metabolism-related genes/pathways in Amyotrophic Lateral Sclerosis (INTEGRALS). Leader.
11. Telethon (2019-2023). "Knockdown and Replacement of MFN2: a Gene Therapy to treat Dominantly Inherited Peripheral Neuropathy CMT2A". Leader.
12. Ministero della salute, Ricerca Finalizzata. (2018-2024). "3D human models to identify early neuronal vulnerability as a therapeutic target for ALS" (RF-2018-12366357 TE). Leader.
13. Ministero della Salute, Ricerca Finalizzata (2020-2024). "Unravelling combined RNA interference and gene therapy *in vitro* and *in vivo* disease models as a potential therapeutic strategy for CMT2A" (GR-2018-12365358). Leader.
14. Fondazione Regionale per la Ricerca Biomedica (FRRB) (2022-2025). Multiomics profiling of patient specific models to predict druggable targets in severe neuromuscolare rare diseases (REMODEL). Partner.
15. Ministero dell'Università e della Ricerca, PNRR-CN3. (2023-2026). Targeting c9Orf72-G4C2 repeats to mitigate c9ORF72 and ATXN2 RNA toxicity (). Leader.
16. Ministero della Salute, Finanziamento nazionale M6/C2 PNRR-PoC. (2023-2025). Targeting miR129 as therapy for Amyotrophic Lateral Sclerosis (2022-12375645). Leader.
17. Ministero dell'Università e della Ricerca, PRIN 2022 (2023-2025). Uncovering spatial and temporal sequence of neurodegeneration in a 3D model of corticospinal-neuromuscular unit of Amyotrophic Lateral Sclerosis (2022ZM9WC4). Leader.
18. Ministero dell'Università e della Ricerca, PRIN 2022-PNRR (2023-2025). Central Nervous System Organoids and assembloids to unravel the spreading of TDP-43 pathology along corticospinal tract in ALS (P2022MSFT3). Partner.

Titolarità di brevetti

1. Titolarità di Brevetto Internazionale: "Inhibitor of miR-A and uses thereof" (n°102019000004571). Brevetto congiunto UNIMI/UNIMB/IRCCS Foundation Ca' Granda "Antisense composition and method for treating motor neuron diseases": Il brevetto prevede la sintesi di nuovi oligonucleotidi contro specifici miRNA per lo sviluppo di strategie terapeutiche per le malattie neurologiche. Il brevetto nel 2021 è stato selezionato per la fase di potenziamento e mentorship con il progetto "Cell Penetrating peptide-coniugato a morfolino per malattie del motoneurone" all'interno del programma SEED4INNOVATION - S4I, Università degli Studi di Milano. Inoltre, nel 2022 Finalista dell'Intellectual Property Award (IPA) 2021, categoria LifeScience, promosso dal Ministero dello Sviluppo Economico, con il brevetto "Inhibitor of miR-A and uses thereof" (n°102019000004571).
2. Titolarità di Brevetto Internazionale: "AAV Gene Therapy for Spinal Muscular Atrophy with Respiratory Distress Type I (SMARD1) and Charcot-Marie-Tooth Disease 2S (CMT2S) caused by mutations in the IGHMBP2 Gene" (PCT/US2020/061863), brevetto congiunto tra

UNIMI/Fondazione IRCCS Ca' Granda e Research Institute at Nationwide Children's Hospital. Il brevetto prevede la sintesi di nuovi costrutti virali che possano veicolare geni corretti per patologie genetiche quali SMARD1 e CMT2S. Trial clinico: NCT05152823.

S.S.D. MALATTIE NEUROMUSCOLARI e RARE

RESPONSABILE:

Prof. Stefania Corti

MEDICI:

Dott. Monica Sciacco

Dott. Daniele Velardo

Dott. Maurizio Moggio (Consulente)

Dott. Alberto Lerario (Consulente)

BIOLOGI:

Dott. Gigliola Fagiolari (Consulente)

Dott. Laura Napoli

Dott. Simona Zanotti

Dott. Michela Ripolone

TECNICI:

Dott. Patrizia Ciscato

AMMINISTRATIVI:

Dott. Alessandra Pedrazzini

La SSD Neurologia-Malattie Neuromuscolari e Rare, all'interno della Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico di Milano, collabora con il "Centro Dino Ferrari" dell'Università degli Studi di Milano, nell'ambito di condivise attività assistenziali e di ricerca.

L'Unità Operativa è costituita da:

1. Ambulatori e Day Hospital per pazienti affetti da malattie rare neuromuscolari
2. Laboratori di diagnostica morfologica (microscopia ottica ed elettronica)
3. Banca di tessuto muscolare, nervo periferico, DNA e colture cellulari

L'attività della UO è finalizzata alla diagnosi, all'assistenza ed allo studio di pazienti affetti da malattie rare neuromuscolari.

Queste malattie sono, fra quelle rare, le più frequenti in assoluto e sono quasi sempre malattie geneticamente determinate. Tra le malattie seguite nel nostro centro vi sono: le Distrofinopatie (Distrofia Muscolare di Duchenne e Becker, DMD e BMD), le Distrofie Muscolari dei cingoli (Limb Girdle Muscular Dystrophy, LGMD), le Miopatie Congenite (CM), le miopatie metaboliche con alterazione del metabolismo glucidico (es. Glicogenosi), lipidico e del metabolismo ossidativo (es. Malattie Mitocondriali), le malattie neurodegenerative del motoneurone ad esordio infantile (Amiotrofia Spinale SMA5q) ed adulto (Sclerosi Laterale Amiotrofica).

Il nostro Centro, uno dei pochissimi in Italia specializzato nell'assistenza di questi pazienti, ha la peculiarità di assisterli sia sotto il profilo ambulatoriale e di Day Hospital sia sotto quello diagnostico di laboratorio mediante analisi biotipiche muscolari e di nervo periferico.

Il Centro riceve numerosi pazienti e biopsie anche da altri ospedali siti in tutto il territorio nazionale. L'Unità è certificata ISO 9001 dall'agosto 2002 da parte di DNV e dal luglio 2005 da parte di BVQI per: "Progettazione ed erogazione di servizi di diagnostica morfologica e ricerca nell'ambito di malattie rare neuromuscolari, in regime di degenza, ambulatoriale e in convenzione per enti terzi. Gestione di una Banca di tessuto muscolare, nervo periferico e DNA".

Attività del Laboratorio per la diagnosi e lo studio delle Malattie Neuromuscolari

Durante l'anno 2023 sono state studiate e refertate 126 biopsie muscolari e 6 biopsie di nervo.

Tutte le biopsie di pazienti col sospetto clinico di distrofia sono state studiate anche con metodiche immunologiche con anticorpi contro le varie proteine coinvolte in queste patologie (distrofina, merosina, sarcoglicani, disferlina, caveolina, emerina, alfadistroglicano, miotilina, desmina, etc.).

Tutte le biopsie di pazienti col sospetto di patologia infiammatoria sono state studiate mediante specifici markers immunocitochimici. In particolare, sono stati utilizzati anticorpi anti-HLA 1 (A,B,C), anti-Membrane Attack Complex, anti-linfociti T (CD4 e CD8) e anti-B (CD 19).

Le biopsie con il sospetto di IBM sono state studiate con la colorazione Rosso Congo.

In totale, relativamente a quanto sopra specificato, sono stati eseguiti 1174 test.

Le biopsie muscolari sono state studiate con metodiche ultrastrutturali quando ritenuto necessario.

In particolare, sono state studiate tutte le biopsie di pazienti affetti da miopatie dismetaboliche per la conferma delle seguenti diagnosi: glicogenosi, lipidosi, mitocondriopatie, miopatie a corpi inclusi e miopatie congenite. Sono state infine analizzate tutte le biopsie nelle quali gli studi istologici, istoenzimologici, biochimici e genetici non sono risultati indicativi di una particolare miopatia.

I prelievi biotipici di nervo periferico sono stati studiati su sezioni criostatiche con le comuni metodiche istologiche e su sezioni semifini incluse in resina per la microscopia elettronica colorate con blu di toluidina.

Per ogni campione è stata eseguita una valutazione quantitativa della densità delle fibre mieliniche con apposito analizzatore di immagini su sezioni semifini, è stata inoltre allestita un'apposita preparazione atta all'analisi di singole fibre nervose isolate (metodica del teasing).

Nelle biopsie di nervo con sospetto di patologia infiammatoria vengono inoltre eseguiti studi immunoistochimici con Abs anti HLA, MAC e linfociti.

I prelievi biotici afferiscono al laboratorio della UOSD Malattie Neuromuscolari e Rare della Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico provenienti da:

- SC di Neurologia
- SSD Malattie Neuromuscolari e Rare
- Dipartimento di Medicina della Fondazione
- Altri Dipartimenti della Fondazione
- Altri Ospedali quali: Ospedale S. Gerardo di Monza, Istituto Auxologico-Ospedale San Luca, Istituto Mondino di Pavia, Istituto Humanitas, Istituto Don Gnocchi di Milano, Ospedale San Paolo, Ospedale Sacco, Ospedale Valduce di Como, Ospedale Cantonale di Lugano, Ospedale di Niguarda, Ospedale di Desio, Ospedale di Lugo di Romagna, Ospedale di Faenza, Ospedale di Gallarate, Ospedale di Busto Arsizio, Ospedale di Melegnano, Ospedale di Vimercate, Ospedale di Legnano, Ospedale Policlinico di Pavia, Ospedale Santa Corona di Garbagnate e occasionalmente da altre strutture ospedaliere.

Regolari Convenzioni o regime di “fatturazione” intercorrono fra il Servizio di Diagnostica e i citati Enti ospedalieri.

Attività della “Banca di tessuti muscolari, nervo periferico, DNA e colture cellulari”, partner della “European Biological Resources Network for Rare Diseases”

- Sono state effettuate spedizioni di campioni biologici di pazienti affetti da malattie Rare Neuromuscolari a n. 5 centri di diagnostica e ricerca sia nazionali, sia internazionali.
- Sono state effettuate spedizioni per un totale di n. 19 campioni biologici (tessuti muscolari, DNA, colture).

Il laboratorio provvede alla tecnica delle biopsie, alla refertazione delle medesime, alla loro conservazione nella Biobanca della UOSD e alla spedizione dei referti ai vari enti ospedalieri.

- Dall'anno 1999 il Laboratorio ha avuto il riconoscimento di “Biobanca Telethon di tessuto muscolare scheletrico, nervo periferico, DNA e colture cellulari”. I diversi campioni biologici stoccati nella banca sono a disposizione dei ricercatori italiani e stranieri interessati e sono elencati in un dedicato sito web: <http://www.centrodinoferrari.com/laboratori/u-o-d-diagnostica-malattie-neuromuscolari-e-rare/>.
- Dall'anno 2001 la banca è parte dell'EuroBiobank, un network di banche di Istituti scientifici di diversi paesi della Comunità Europea.
- Dall'anno 2002 la banca è anche parte del Progetto Finalizzato dell'Ospedale Maggiore “Biorepository”.
- Da Luglio 2002 l'Unità operativa ha ottenuto la certificazione ISO 9001:2000 per “Progettazione ed erogazione di servizi di diagnostica morfologica e ricerca nell'ambito di malattie rare neuromuscolari, in regime di degenza, ambulatoriale e in convenzione per enti terzi. Gestione di una Banca di tessuto muscolare, nervo periferico e DNA”.
- Dal 2008 è partner del “Telethon Network of Genetic Biobanks”.
- Da Luglio 2013 è entrata a far parte dell'Infrastruttura di ricerca europea Biobanking and Biomolecular Resources Research Infrastructure (BBMRI).
- Dal 2013 la Biobanca è parte di RD-Connect.

ATTIVITA' DI RICERCA

Attività di ricerca:

- **Programma di ricerca sulle malattie rare neuromuscolari:**

L'attività di ricerca è mirata allo studio eziopatogenetico e ai nuovi approcci terapeutici per le malattie rare neuromuscolari.

Inoltre, è attiva una biobanca dedicata alla raccolta dei tessuti muscolari, dei nervi periferici, del DNA e delle colture cellulari provenienti da pazienti affetti da queste patologie.

- **Analisi Ultrastrutturali:**

In ambito microscopia elettronica, sono in corso progetti di collaborazione con altri laboratori della Fondazione mirati all'analisi ultrastrutturale di tessuti epatici sia umani, sia murini.

PROGETTI IN CORSO

- **Progetto Pompe Star**

Progetto mirato ad ampliare la caratterizzazione della Malattia di Pompe sul territorio. La SSD Malattie Neuromuscolari e Rare è stata selezionata tra i Centri di riferimento per il nord Italia, la Dott.ssa Monica Sciacco la rappresenta in qualità di Docente e Tutor.

- **Analisi Ultrastrutturale di biopsie epatiche di pazienti affetti da NAFLD**

In collaborazione con l'Unità Operativa di Medicina Interna ad Indirizzo Metabolico, sono state raccolte le biopsie epatiche di pazienti affetti da NAFLD. Tali pazienti saranno stratificati in base alla presenza delle tre principali varianti di rischio nei geni PNPLA3, TMC4 e TM6SF2. Le biopsie saranno studiate mediante microscopia elettronica, allo scopo di valutare il livello di steatosi, il possibile danno al reticolo, il numero e la morfologia dei mitocondri.

- **Analisi Ultrastrutturale di biopsie epatiche provenienti da modelli murini affetti da NAFLD**

In collaborazione con l'Unità Operativa di Medicina Interna ad Indirizzo Metabolico, sono in corso studi di caratterizzazione di modelli murini affetti da NAFLD e sottoposti a dieta. Campioni di biopsie epatiche saranno studiate mediante microscopia elettronica, allo scopo di valutare il livello di steatosi, il possibile danno al reticolo, il numero e la morfologia dei mitocondri.

- **Analisi Ultrastrutturale di biopsie epatiche provenienti da modelli murini nell'ambito di un modello preclinico che utilizza la Machine Perfusion.**

La tecnologia definita Machine Perfusion, consente di trattare, fuori dall'organismo, un organo, prelevato a scopo di trapianto, prima che l'organo stesso venga impiantato nel paziente ricevente. È una tecnica già utilizzata nel nostro ospedale per valutare e migliorare la qualità di organi che inizialmente non soddisfano i criteri di idoneità al trapianto. In collaborazione con l'UOC di **Chirurgia Generale e Trapianti, verranno studiate biopsie epatiche provenienti da** Fegati prelevati da ratti e sottoposti a diversi protocolli di perfusione. I campioni saranno studiati mediante analisi ultrastrutturale in microscopia elettronica, allo scopo di valutare la morfologia e la qualità del tessuto.

- **Studio della fibrosi, infiammazione, capillarizzazione e miRNA circolanti per migliorare la preparazione di futuri studi clinici e lo sviluppo di nuove terapie nella la distrofia muscolare di Becker (BMD)**

Questo progetto mira a migliorare la preparazione a futuri studi clinici e lo sviluppo terapeutico per la distrofia muscolare di Becker (BMD) attraverso l'indagine di tre aspetti chiave: fibrosi, infiammazione e vascolarizzazione, che contribuiscono ai cambiamenti strutturali e funzionali nei

muscoli affetti da BMD. Analizzeremo biopsie muscolari provenienti da un'ampia coorte di pazienti affetti da BMD, inclusi soggetti pediatrici, concentrandoci sui cambiamenti istologici associati alla progressione della malattia e valutando possibili correlazioni con tratti clinici e dati funzionali. I risultati dello studio miglioreranno la caratterizzazione dei pazienti e forniranno informazioni importanti per identificare biomarcatori per gli studi clinici farmacologici, in cui le modifiche alla biopsia muscolare rientrano tra i parametri di valutazione. Inoltre, valuteremo i livelli di espressione sierica di microRNA selezionati, piccole molecole di RNA non codificante coinvolte nella fibrosi, nella risposta infiammatoria e nell'angiogenesi. Attraverso lo studio dei microRNA isolati dai sieri dei pazienti, il nostro obiettivo è acquisire conoscenze significative sui meccanismi sottostanti lo sviluppo delle condizioni patologiche nella BMD. In tal modo, miriamo a identificare potenziali biomarcatori non invasivi che possano consentire di monitorare efficacemente la progressione della malattia e la risposta terapeutica. Inoltre, la nostra ricerca si propone di individuare possibili bersagli terapeutici che possano essere utilizzati per lo sviluppo di nuove strategie di trattamento per la BMD.

- **Applicazione della Proteomica Spaziale nella distrofia Muscolare di Becker.**

Lo scopo di questo progetto mira ad espandere la caratterizzazione dei cambiamenti distrofici nel muscolo scheletrico di pazienti affetti da distrofia muscolare di Becker (BMD) utilizzando un approccio proteomico spaziale. La popolazione oggetto di studio comprende 50 pazienti con diagnosi di BMD, 30 adulti con età compresa tra i 19 e i 65 anni e 12 pazienti pediatrici con età compresa tra i 2 e i 14 anni.

Useremo la piattaforma di imaging MACSima, una nuova piattaforma per l'imaging completamente automatizzata che permette di colorare e analizzare centinaia di marker su un singolo campione. Verranno studiati sia marcatori conosciuti sia nuovi marcatori associati ai processi della fibrosi, infiammazione e vascolarizzazione. I dati che otterremo saranno utili per stratificare i pazienti BMD negli studi farmacologici, nei quali i cambiamenti a livello del muscolo rientrano tra le misure di outcome.

- **Valutazione della funzionalità diaframmatica nel trapianto di polmone: studio intraoperatorio del nervo frenico.**

Il diaframma è il principale muscolo respiratorio del corpo umano, separa la cavità toracica da quella addominale ed è innervato dal nervo frenico. La sua disfunzione può causare gravi problemi respiratori, con impatti potenzialmente drammatici, inclusa l'insufficienza respiratoria. La sua fisiopatologia è ancora poco compresa, ma la gestione personalizzata è cruciale. La disfunzione diaframmatica può essere causata da vari fattori, tra cui lesioni, uso di steroidi, infezioni e anche ventilazione meccanica. La recente pandemia da COVID-19 ha evidenziato l'interdipendenza tra le tecniche di ventilazione e lo stato di salute del diaframma. La ventilazione meccanica può causare atrofia diaframmatica, e la disfunzione diaframmatica indotta dal ventilatore (VIDD) è sempre più riconosciuta per il suo impatto sull'esito clinico, inclusa la durata della ventilazione e la sopravvivenza. Il paziente trapiantato di polmone è un modello di studio ideale per valutare il diaframma. Gli approcci includono campionamento biotico, elettromiografia del nervo frenico e misurazioni invasive durante la ventilazione meccanica. In sintesi, la comprensione della disfunzione del diaframma e il suo impatto clinico richiedono un approccio integrato e personalizzato, con particolare attenzione ai pazienti ventilati meccanicamente e a quelli trapiantati di polmone. L'obiettivo primario del progetto condotto su pazienti candidati a trapianto di polmone bilaterale è lo studio della funzione diaframmatica e dei meccanismi fisiopatologici della sua disfunzione. Tra gli obiettivi secondari vi sono l'individuazione della fase intraoperatoria d'insorgenza del difetto di conduzione del nervo frenico e quindi della disfunzione diaframmatica post-trapianto, l'impatto del trapianto sulla forma del diaframma e le conseguenze funzionali del disadattamento sulla dimensione del polmone donatore/ricevente.

PRODUTTIVITÀ SCIENTIFICA ANNO 2023

L'attività di ricerca è stata condotta utilizzando gli stessi laboratori e apparecchi impiegati per la diagnostica neuromuscolare. Anche i reagenti utilizzati sono, almeno per l'80%, quelli comunemente impiegati per la diagnostica.

L'attività di ricerca ha prodotto nel 2023 i seguenti risultati:

Pubblicazioni 2023 SSD Malattie Neuromuscolari e Rare

Zanotti S, Magri F, Salani S, Napoli L, Ripolone M, Ronchi D, Fortunato F, Ciscato P, Velardo D, D'Angelo MG, Gualandi F, Nigro V, Sciacco M, Corti S, Comi GP, Piga D.

Extracellular Matrix Disorganization and Sarcolemmal Alterations in COL6-Related Myopathy Patients with New Variants of COL6 Genes.

Int J Mol Sci. 2023 Mar 14;24(6):5551. doi: 10.3390/ijms24065551.

IF: 6,208

Il collagene VI è una proteina eterotrimerica espressa in diversi tessuti e coinvolta nel mantenimento dell'integrità cellulare. Si localizza sulla superficie cellulare ed è molto importante per il collegamento tra il citoscheletro e la matrice extracellulare. L'eterotrimerico è costituito da tre catene codificate dai geni COL6A1, COL6A2 e COL6A3. I difetti molecolari causano due patologie principali, la grave distrofia muscolare congenita di Ullrich e la miopatia di Bethlem relativamente lieve e a lenta progressione. Abbiamo analizzato gli aspetti clinici, le caratteristiche patologiche e lo spettro mutazionale di 15 pazienti con mutazione COL6 appartenenti alla nostra coorte di probandi di distrofia muscolare. I pazienti presentavano un fenotipo eterogeneo che andava da forme gravi a presentazioni lievi con esordio in età adulta. L'analisi molecolare effettuata da NGS ha rilevato 14 diverse varianti patogene, tre delle quali finora non segnalate. Per la validazione delle varianti genetiche sono state impiegate tecniche istologiche, immunologiche e ultrastrutturali che hanno documentato l'elevata variabilità nella distribuzione di mutazioni nel gene COL6 e la disorganizzazione della matrice extracellulare, evidenziando l'eterogeneità clinica della nostra coorte.

Zanotti S, Ripolone M, Napoli L, Velardo D, Salani S, Ciscato P, Priori S, Kukavica D, Mazzanti A, Diamanti L, Vegezzi E, Moggio M, Corti S, Comi G, Sciacco M.

Characterization of Skeletal Muscle Biopsy and Derived Myoblasts in a Patient Carrying Arg14del Mutation in Phospholamban Gene.

Cells. 2023 May 17;12(10):1405. doi: 10.3390/cells12101405.

IF: 7,666

In questo lavoro abbiamo descritto il caso di un paziente italiano portatore di una mutazione Arg14del nel gene codificante il fosfolambano (PLN). Il fosfolambano è coinvolto nella regolazione nell'immagazzinamento del calcio nel muscolo cardiaco. Sono state identificate diverse mutazioni nel gene PLN che causano malattie cardiache associate a cardiomiopatia aritmogena e dilatativa. Il meccanismo patogenetico tuttavia non è completamente chiaro e una terapia specifica non è ancora disponibile. Inoltre sono poco conosciuti gli effetti delle mutazioni del PLN nel muscolo scheletrico. Il nostro paziente oltre al già descritto fenotipo cardiaco, presenta anche anomalie muscolari agli arti inferiori, affaticabilità, crampi e fascicolazioni. La valutazione della biopsia al muscolo scheletrico ha mostrato alterazioni istologiche immunoistochimiche e ultrastrutturali. In particolare, abbiamo rilevato un aumento del numero di fibre centronucleate e una riduzione dell'area della sezione trasversale delle fibre, un'alterazione delle proteine p62, LC3 e VCP e la formazione di aggresomi perinucleari.

Magri F, Napoli L, Ripolone M, Ciscato P, Moggio M, Corti S, Comi GP, Sciacco M, Zanotti S.
The Profiling of 179 miRNA Expression in Serum from Limb Girdle Muscular Dystrophy Patients and Healthy Controls.

Int J Mol Sci. 2023 Dec 12;24(24):17402. doi: 10.3390/ijms242417402.

IF: 6,208

Questo studio è stato condotto su una coorte di pazienti con mutazioni note in geni (calpaina, disferlina, alfa-sarcoglicano e beta-sarcoglicano) causativi di differenti forme di distrofia dei cingoli (LGMD), un gruppo di malattie neuromuscolari geneticamente ereditate con una presentazione clinica molto variabile. Negli ultimi anni si è registrato un crescente interesse per l'uso di biomarcatori circolanti non invasivi per monitorare la progressione della malattia e valutare l'efficacia degli approcci terapeutici. Le analisi sono state condotte su 16 pazienti LGMD e su controlli di pari età, in particolare è stata valutata l'espressione sierica utilizzando un pannello che permette la simultanea valutazione di 179 miRNAs espressi nel siero e nel plasma. L'analisi dei dati ottenuti in Real-Time PCR per identificare le differenze di espressione tra pazienti e controlli è stata effettuata tramite software GeneGlobe Data Analysis. Questo lavoro ha identificato sei miRNA, che si sono rivelati in grado di discriminare un gruppo specifico di pazienti LGMD, inoltre la loro combinazione è in grado di discriminare i pazienti LGMD dai controlli.

Ripolone M, Zanotti S, Napoli L, Ronchi D, Ciscato P, Comi GP, Moggio M, Sciacco M.

MERRF Mutation A8344G in a Four-Generation Family without Central Nervous System Involvement: Clinical and Molecular Characterization.

J Pers Med. 2023 Jan 11;13(1):147. doi: 10.3390/jpm13010147.

IF: 3,508

In questo lavoro viene presentato il caso di un uomo di 53 anni, pervenuto alla nostra attenzione in seguito ad un riscontro incidentale di iperckemia. Come la madre, morta all'età di 77 anni, anche il paziente era diabetico e aveva alcuni lipomi. Le due sorelle del paziente, di 60 e 50 anni, non presentavano alcun sintomo neurologico. La biopsia del muscolo scheletrico del probando ha mostrato diverse fibre COX-negative, molte delle quali erano "fibre ragged red". L'analisi genetica ha rivelato la presenza della mutazione A8344G del mtDNA, che è più comunemente associata a un disturbo mitocondriale multisistemico ereditato dalla madre noto come MERRF (epilessia mioclonica con fibre rosse sfilacciate). Anche le due sorelle portano la mutazione. Sebbene siano stati segnalati fenotipi atipici in associazione con la mutazione A8344G, manifestazioni a carico del sistema nervoso centrale (CSN) diverse dall'epilessia mioclonica sono sempre riportate nell'albero genealogico. Se presenti, le nostre manifestazioni familiari di quattro generazioni hanno esordio tardivo e non influenzano il sistema nervoso centrale. Ciò potrebbe essere spiegato dal fatto che il carico mutazionale rimane basso e quindi impedisce ai tessuti/organi di raggiungere la soglia patologica.

Furciniti G, Casalino G, Lo Russo FM, Bolli N, Meneri M, Comi GP, Corti SP, Velardo D.

Unraveling the Neurological Complexity of Polyneuropathy, Organomegaly, Endocrinopathy, Monoclonal Protein, and Skin Changes Syndrome: A Report of a Challenging Case of a Young Woman and Cutting-Edge Advancements in the Field.

Diseases. 2023 Nov 10;11(4):167. doi: 10.3390/diseases11040167.

IF: 3,7

In questo articolo viene descritto il caso di una giovane donna, giunta all'attenzione del nostro ospedale per comparsa subdola, durante il periodo di allattamento, di ipostenia agli arti inferiori con progressivo peggioramento, cui si associavano anche disturbi del campo visivo. Le indagini eseguite hanno consentito di individuare una polineuropatia mista assonale-demielinizzante, una condizione di ipertensione endocranica, una discrasia plasmacellulare caratterizzata da gammopatia monoclonale lambda ed elevati livelli plasmatici di VEGF, portando alla diagnosi di sindrome POEMS. L'avvio di una terapia antineoplastica (dartumumab-lenalidomide-desametasone) e la successiva esecuzione

di un trapianto autologo di midollo osseo hanno migliorato le sue condizioni cliniche. La sindrome POEMS è una condizione molto rara, questa segnalazione sottolinea l'importanza di tenere in considerazione questa diagnosi anche in pazienti molto giovani che si presentano con disturbi neurologici all'esordio.

Velardo D, Antognozzi S, Rimoldi M, Pagliarani S, Cogiamanian F, Barbieri S, Corti S, Comi GP, Ronchi D.

Case report: Clinical and molecular characterization of two siblings affected by Brody myopathy.

Front Neurol. 2023 Jun 2;14:1170071. doi: 10.3389/fneur.2023.1170071.

IF: 4,086

La malattia di Brody è una rara miopatia autosomica recessiva dovuta a varianti patogene bialleliche del gene che codifica l'ATPasi SERCA1 del reticolo sarcoplasmatico/endoplasmatico del Ca²⁺. Caratteristica principale è la rigidità muscolare indotta dall'esercizio fisico. In questo lavoro riportiamo le caratteristiche cliniche, strumentali e molecolari di due fratelli che presentano una rigidità muscolare indotta dall'esercizio fisico e senza dolore. Entrambi i probandi presentano difficoltà a salire le scale e a correre, cadute frequenti, rilassamento muscolare ritardato dopo lo sforzo. L'analisi dell'intero esoma nei probandi ha rivelato la presenza di due varianti di ATP2A1: la microdelezione frameshift c.2464delC precedentemente riportata e la nuova variante patogena c.324 + 1G > A, il cui effetto dannoso è stato dimostrato nell'analisi del trascritto di ATP2A1. L'ereditarietà bi-allelica è stata verificata mediante sequenziamento Sanger nei genitori non affetti. Questo studio amplia i difetti molecolari associati alla miopatia di Brody.

De Filippi P, Errichiello E, Toscano A, Mongini T, Moggio M, Ravaglia S, Filosto M, Servidei S, Musumeci O, Giannini F, Piperno A, Siciliano G, Ricci G, Di Muzio A, Rigoldi M, Tonin P, Croce MG, Pegoraro E, Politano L, Maggi L, Telese R, Lerario A, Sancricca C, Vercelli L, Semplicini C, Pasanisi B, Bembi B, Dardis A, Palmieri I, Cereda C, Valente EM, Danesino C.

Distribution of Exonic Variants in Glycogen Synthesis and Catabolism Genes in Late Onset Pompe Disease (LOPD).

Curr Issues Mol Biol. 2023 Apr 1;45(4):2847-2860. doi: 10.3390/cimb45040186.

IF: 2,976

La malattia di Pompe (PD) è un disturbo genetico autosomico recessivo causato da varianti patogene bialleliche nel gene GAA, che produce l'alfa-glucosidasi lisosomiale. La sua mancanza provoca l'accumulo di glicogeno nei lisosomi, principalmente nel tessuto muscolare scheletrico. La correlazione tra genotipo e fenotipo è stata ampiamente discussa, con la raccomandazione di interpretare con cautela la significatività clinica delle mutazioni in singoli pazienti. La variabilità clinica osservata suggerisce che varianti genetiche al di fuori delle mutazioni patogene di GAA influenzino i meccanismi di danneggiamento/riparazione muscolare e l'aspetto clinico. I geni coinvolti nella sintesi e nel catabolismo del glicogeno sono potenziali modulatori fenotipici di PD. Nel sequenziamento dell'intero esoma su 30 pazienti con Pompe a insorgenza tardiva (LOPD), sono emerse varianti rilevanti nei geni correlati al glicogeno. L'analisi ha mostrato poche varianti nei geni muscolari, ma nessuna di esse ha mostrato un effetto marcato sul fenotipo. I punteggi clinici attuali per la valutazione della malattia non descrivono adeguatamente l'impairment muscolare correlato ai geni che impattano il fenotipo.

Doneddu PE, Akyil H, Manganelli F, Briani C, Cocito D, Benedetti L, Mazzeo A, Fazio R, Filosto M, Cosentino G, Di Stefano V, Antonini G, Marfia GA, Inghilleri M, Siciliano G, Clerici AM, Carpo M, Schenone A, Luigetti M, Lauria G, Matà S, Rosso T, Minicuci GM, Lucchetta M, Cavaletti G, Liberatore G, Spina E, Campagnolo M, Peci E, Germano F, Gentile L, Strano C, Cotti Piccinelli S, Vegezzi E, Leonardi L, Mataluni G, Ceccanti M, Schirinzi E, Romozzi M, Nobile-Orazio E; Italian CIDP Database study group.

Unclassified clinical presentations of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy.

J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2023 Aug;94(8):614-621. doi: 10.1136/jnnp-2022-331011.
IF: 13,654

Questo lavoro ha l'obiettivo di valutare la capacità dei criteri clinici 2021 della European Academy of Neurology/Peripheral Nerve Society (EAN/PNS) per la poliradiculoneuropatia infiammatoria cronica demielinizzante (CIDP) di includere nella classificazione l'intero spettro di manifestazioni cliniche della malattia e di definire le caratteristiche cliniche delle forme non classificabili. I criteri clinici EAN/PNS 2021 sono stati applicati a 329 pazienti che soddisfacevano i criteri elettrodiagnostici per la diagnosi di CIDP. All'inclusione nello studio, 124 (37.5%) pazienti avevano una presentazione clinica non classificabile, di cui 110 (89%) con un fenotipo clinico tipico simile alla CIDP in cui alcuni segmenti dei quattro arti non erano interessati da debolezza. Ottantuno (65%) pazienti hanno mantenuto una presentazione non classificabile durante l'intero follow-up della malattia, mentre 13 pazienti sono progrediti a CIDP tipica. I pazienti con forme cliniche non classificabili, rispetto ai pazienti con CIDP tipica, presentavano una forma più lieve di CIDP, mentre non vi erano differenze nei pattern di distribuzione della demielinizzazione. In conclusione una parte dei pazienti con CIDP non soddisfa rigorosamente i criteri clinici EAN/PNS 2021 per la diagnosi. Questi fenotipi clinici non classificabili possono rappresentare una sfida diagnostica e meritano quindi maggiore attenzione nella pratica clinica e nella ricerca.

Fortunato F, Bianchi F, Ricci G, Torri F, Gualandi F, Neri M, Farnè M, Giannini F, Malandrini A, Volpi N, Lopercolo D, Silani V, Ticozzi N, Verde F, Pareyson D, Fenu S, Bonanno S, Nigro V, Peduto C, D'Ambrosio P, Zeuli R, Zanolini M, Picillo E, Servadei S, Primiano G, Sancricca C, Sciacco M, Brusa R, Filosto M, Cotti Piccinelli S, Pegoraro E, Mongini T, Solero L, Gadaleta G, Brusa C, Minetti C, Bruno C, Panicucci C, Sansone VA, Lunetta C, Zanolini A, Toscano A, Pugliese A, Nicocia G, Bertini E, Catteruccia M, Diodato D, Atalaia A, Evangelista T, Siciliano G, Ferlini A.
Digital health and Clinical Patient Management System (CPMS) platform utility for data sharing of neuromuscular patients: the Italian EURO-NMD experience.

Orphanet J Rare Dis. 2023 Jul 21;18(1):196. doi: 10.1186/s13023-023-02776-5.
IF: 3,7

Le tecnologie e-health per la teleconsulenza e lo scambio di conoscenze sono un obiettivo chiave delle Reti di Riferimento Europee (ERNs), come la ERN EURO-NMD per le malattie neuromuscolari rare. Il Sistema di Gestione Clinica del Paziente (CPMS) è una piattaforma web nelle ERNs che promuove la collaborazione e la condivisione sicura dei dati, agendo come archivio temporaneo e strumento efficace per la consulenza specialistica in malattie rare. Seguendo la raccomandazione dell'UE, è stato avviato un progetto pilota di 12 mesi per formare i 15 fornitori di assistenza sanitaria italiani e promuovere l'uso efficace del CPMS. L'articolo riporta la struttura, i metodi e i risultati del corso, evidenziando il miglioramento significativo nell'utilizzo profittevole del CPMS attraverso una formazione personalizzata orientata alle ERN. Il risultato atteso è la creazione di una "mappa" dei pazienti neuromuscolari in Europa che potrebbe essere migliorata mediante un uso più diffuso del CPMS.

Sonne A, Peverelli L, Hernandez-Lain A, Domínguez-González C, Andersen JL, Milone M, Beggs AH, Ochala J.
Myosin post-translational modifications and function in the presence of myopathy-linked truncating MYH2 mutations.

Am J Physiol Cell Physiol. 2023 Mar 1;324(3):C769-C776. doi: 10.1152/ajpcell.00002.2023.
IF: 5,5

Le miopatie congenite sono un vasto gruppo di malattie muscolari genetiche. Tra le cause vi sono mutazioni nel gene MYH2 che generano catene pesanti di miosina di tipo IIa (MyHC) troncate. Gli specifici meccanismi molecolari e cellulari alla base dei sintomi muscolari rimangono poco chiari. In uno studio su quattro pazienti affetti da queste miopatie, abbiamo analizzato le fibre muscolari

confrontandole con cinque soggetti sani. Le valutazioni hanno coinvolto la presenza e le modifiche di MyHC tramite LC/MS, la conformazione rilassata della miosina e il consumo di ATP, l'attivazione della miosina in vitro e la produzione di forza cellulare. Abbiamo identificato nei nostri pazienti una MyHC di tipo IIa con una lisina acetilata aggiuntiva (Lys35-Ac). Questo è stato associato a una maggiore richiesta di ATP nelle teste di miosina in conformazione rilassata, una cinetica dell'actina-miosina più veloce e una forza muscolare ridotta. Complessivamente, i nostri risultati indicano che le mutazioni troncanti di MYH2 influenzano la presenza e la funzionalità della miosina nelle miofibre mature degli adulti, compromettendo l'attività ATPasica e il complesso actina-miosina. Queste perturbazioni molecolari sono probabilmente determinanti nel generare il fenotipo miopatico dei pazienti.

Zanotti S, Velardo D, Sciacco M.

Traumatic Brain Injury Triggers Neurodegeneration in a Mildly Symptomatic MELAS Patient: Implications on the Detrimental Role of Damaged Mitochondria in Determining Head Trauma Sequelae in the General Population.

Metabolites. 2022 Dec 28;13(1):46. doi: 10.3390/metabo13010046.

La sindrome da encefalomiopatia mitocondriale, acidosi lattica e episodi simili a ictus (MELAS) è una malattia genetica mitocondriale ereditata dalla madre, con un esordio tipico nei primi due decenni di vita e un coinvolgimento significativo del sistema nervoso centrale (SNC). Presentiamo il caso di un uomo affetto da una sindrome di MELAS geneticamente determinata, con una presentazione clinicamente oligosintomatica, il cui quadro clinico è peggiorato in modo drammatico e irreversibile a seguito di un lieve trauma cranico. Ipotezziamo che lo stress metabolico del SNC causato dal trauma cranico abbia attivato una cascata irreversibile di eventi che ha portato ad una progressiva neurodegenerazione, in quanto i mitocondri danneggiati non sono più stati in grado di ripristinare l'equilibrio tra il fabbisogno energetico e la disponibilità.

Elenco delle Pubblicazioni Scientifiche in Collaborazione con Neurologia-Laboratorio di Biochimica e Genetica.

Comi GP, Niks EH, Vandenborne K, Cinnante CM, Kan HE, Willcocks RJ, Velardo D, Magri F, Ripolone M, van Benthem JJ, van de Velde NM, Nava S, Ambrosoli L, Cazzaniga S, Bettica PU.

Givinostat for Becker muscular dystrophy: A randomized, placebo-controlled, double-blind study.

Front Neurol. 2023 Jan 30;14:1095121. doi: 10.3389/fneur.2023.1095121.

Ronchi D, Garbellini M, Magri F, Menni F, Meneri M, Bedeschi MF, Dilella R, Cecchetti V, Picciolli I, Furlan F, Polimeni V, Salani S, Pezzoli L, Fortunato F, Bellini M, Piga D, Ripolone M, Zanotti S, Napoli L, Ciscato P, Sciacco M, Mangili G, Mosca F, Corti S, Iascone M, Comi GP.

A biallelic variant in COX18 cause isolated Complex IV deficiency associated with neonatal encephalo-cardio-myopathy and axonal sensory neuropathy.

Eur J Hum Genet. 2023 Dec;31(12):1414-1420. doi: 10.1038/s41431-023-01433-6.

Ferrari Aggradi CR, Rimoldi M, Romagnoli G, Velardo D, Meneri M, Iacobucci D, Ripolone M, Napoli L, Ciscato P, Moggio M, Comi GP, Ronchi D, Corti S, Abati E.

Lafora Disease: A Case Report and Evolving Treatment Advancements.

Brain Sci. 2023 Dec 6;13(12):1679. doi: 10.3390/brainsci13121679.

Rimoldi M, Magri F, Antognozzi S, Ripolone M, Salani S, Piga D, Bertolasi L, Zanotti S, Ciscato P, Fortunato F, Moggio M, Corti S, Comi GP, Ronchi D.

Prominent muscle involvement in a familial form of mitochondrial disease due to a COA8 variant.

Front Genet. 2023 Nov 30;14:1278572. doi: 10.3389/fgene.2023.1278572. eCollection 2023.

Kishnani PS, Diaz-Manera J, Toscano A, Clemens PR, Ladha S, Berger KI, Kushlaf H, Straub V, Carvalho G, Mozaffar T, Roberts M, Attarian S, Chien YH, Choi YC, Day JW, Erdem-Ozdamar S,

Illarioshkin S, Goker-Alpan O, Kostera-Pruszczyk A, van der Ploeg AT, An Haack K, Huynh-Ba O, Tammireddy S, Thibault N, Zhou T, Dimachkie MM, Schoser B; COMET Investigator Group. *Efficacy and Safety of Avalglucosidase Alfa in Patients With Late-Onset Pompe Disease After 97 Weeks: A Phase 3 Randomized Clinical Trial.*

JAMA Neurol. 2023 Jun 1;80(6):558-567. doi: 10.1001/jamaneurol.2023.0552. Clinical Trial.

Dosi C, Rubegni A, Baldacci J, Galatolo D, Doccini S, Astrea G, Berardinelli A, Bruno C, Bruno G, Comi GP, Donati MA, Dotti MT, Filosto M, Fiorillo C, Giannini F, Gigli GL, Grandis M, Lopercolo D, Magri F, Maioli MA, Malandrini A, Massa R, Matà S, Melani F, Messina S, Mignarri A, Moggio M, Pennisi EM, Pegoraro E, Ricci G, Sacchini M, Schenone A, Sampaolo S, Sciacco M, Siciliano G, Tasca G, Tonin P, Tupler R, Valente M, Volpi N, Cassandrini D, Santorelli FM.

Using Cluster Analysis to Overcome the Limits of Traditional Phenotype-Genotype Correlations: The Example of RYR1-Related Myopathies.

Genes (Basel). 2023 Jan 23;14(2):298. doi: 10.3390/genes14020298.

NGS-Based Genetic Analysis in a Cohort of Italian Patients with Suspected Inherited Myopathies and/or HyperCKemia.

Invernizzi F, Izzo R, Colangelo I, Legati A, Zanetti N, Garavaglia B, Lamantea E, Peverelli L, Ardisson A, Moroni I, Maggi L, Bonanno S, Fiori L, Velardo D, Magri F, Comi GP, Ronchi D, Ghezzi D, Lamperti C.

NGS-Based Genetic Analysis in a Cohort of Italian Patients with Suspected Inherited Myopathies and/or HyperCKemia.

Genes (Basel). 2023 Jul 2;14(7):1393. doi: 10.3390/genes14071393.

Pezzoni L, Brusa R, Difonzo T, Magri F, Velardo D, Corti S, Comi GP, Saetti MC.

Cognitive abnormalities in Becker muscular dystrophy: a mysterious link between dystrophin deficiency and executive functions.

Neurol Sci. 2023 Nov 15. doi: 10.1007/s10072-023-07169-x.

Scarcella S, Dell'Arti L, Gagliardi D, Magri F, Govoni A, Velardo D, Mainetti C, Minorini V, Ronchi D, Piga D, Comi GP, Corti S, Meneri M.

Ischemic optic neuropathy as first presentation in patient with m.3243 A > G MELAS classic mutation

BMC Neurol. 2023 Apr 24;23(1):165. doi: 10.1186/s12883-023-03198-3.

Meneri M, Abati E, Gagliardi D, Faravelli I, Parente V, Ratti A, Verde F, Ticozzi N, Comi GP, Ottoboni L, Corti S.

Identification of Novel Biomarkers of Spinal Muscular Atrophy and Therapeutic Response by Proteomic and Metabolomic Profiling of Human Biological Fluid Samples.

Biomedicines. 2023 Apr 23;11(5):1254. doi: 10.3390/biomedicines11051254. Review.

Rizzuti M, Sali L, Melzi V, Scarcella S, Costamagna G, Ottoboni L, Quetti L, Brambilla L, Papadimitriou D, Verde F, Ratti A, Ticozzi N, Comi GP, Corti S, Gagliardi D.

Genomic and transcriptomic advances in amyotrophic lateral sclerosis.

Ageing Res Rev. 2023 Dec;92:102126. doi: 10.1016/j.arr.2023.102126. Epub 2023 Nov 14. Review.

Manini A, Gagliardi D, Meneri M, Antognozzi S, Del Bo R, Comi GP, Corti S, Ronchi D.

NOTCH2NL GGC repeats are not expanded in Italian amyotrophic lateral sclerosis patients.

Sci Rep. 2023 Feb 23;13(1):3187. doi: 10.1038/s41598-023-30393-6.

Rizzo F, Bono S, Ruepp MD, Salani S, Ottoboni L, Abati E, Melzi V, Cordiglieri C, Pagliarani S, De Gioia R, Anastasia A, Taiana M, Garbellini M, Lodato S, Kunderfranco P, Cazzato D, Cartelli D, Lonati C, Bresolin N, Comi G, Nizzardo M, Corti S.

Combined RNA interference and gene replacement therapy targeting MFN2 as proof of principle for the treatment of Charcot-Marie-Tooth type 2A.

Cell Mol Life Sci. 2023 Nov 25;80(12):373. doi: 10.1007/s00018-023-05018-w.

Vicino A, Bello L, Bonanno S, Govoni A, Cerri F, Ferraro M, Capece G, Gadaleta G, Meneri M, Vacchiano V, Ricci G, D'Errico E, Tramacere I, Banfi P, Bortolani S, Zanin R, Maioli MA, Silvestrini M, Previtali SC, Berardinelli A, Turri M, Coccia M, Mantegazza R, Liguori R, Filosto M, Siciliano G, Simone IL, Mongini T, Comi G, Pegoraro E, Maggi L.

Respiratory function in a large cohort of treatment-naïve adult spinal muscular atrophy patients: a cross-sectional study.

Neuromuscul Disord. 2023 Dec;33(12):911-916. doi: 10.1016/j.nmd.2023.10.002. Epub 2023 Oct 12. PMID: 37945485

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

Dott. Alessandro Di Maio

Dott. Vidal Yahya

Dott. Francesco Pirone

Dott.ssa Rosa Chavez

BIOLOGI:

Dr.ssa Manuela Magni

Dott. Fabio Biella

STUDY COORDINATOR:

Paolo Varuzza

Diego Scalabrini

Nel corso dell'anno 2023 le attività del gruppo di ricerca dedicato alla malattia di Parkinson ed altri disturbi del movimento si sono focalizzate sulle sperimentazioni di nuove terapie per la malattia di Parkinson e per l'Atrofia Multisistemica, e sulla ricerca di base dei meccanismi molecolari genetici e cellulari mirati sottostanti i disordini del movimento.

Continuano gli 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.

Nuovi importanti traguardi sono stati raggiunti nello studio degli aspetti genetici delle distonie, che hanno portato a diverse pubblicazioni su riviste eccellenti nell'ambito della neurologia. Grazie a queste collaborazioni è vinto il bando europeo EJPRD sulle forme di Distonie Rare, di cui il nostro centro è Coordinatore. E' ora in corso la parte sperimentale del progetto che vede coinvolti cinque centri europei noti per essere eccellenza sulla ricerca di base, clinica e sulla cura delle distonie.

Anche gli studi sugli aspetti genetici della malattia di Parkinson hanno avuto grande risonanza nel 2023, grazie collaborazione d'istituti a carattere nazionale e internazionale, con lo scopo di individuare nuove mutazioni genetiche sia nelle forme giovanili sia in quelle adulte della malattia, e di consentire una migliore caratterizzazione dei fenotipi associati a determinati fattori di rischio genetico. Il risultato è stato pubblicato sulla rivista Movement Disorders. Il responsabile del team ha coordinato il gruppo di genetica del progetto PARKNET3 delle reti IRCCS. Inoltre, è partito un ulteriore studio promosso dagli istituti virtuali delle Neuroscienze, volto a valutare i Biomarcatori plasmatici e genetici nei soggetti con malattie neurodegenerative. Il nostro centro, in questo progetto, è coordinatore di un workpackage inerente la genetica, in particolare si occuperà di valutare l'impatto delle varianti rare dei geni nella neuroinfiammazione nel predisporre i soggetti a forme più o meno gravi di degenerazione neuronale.

E' iniziato inoltre un nuovo studio promosso dalla Company Sanofi finalizzato al sequenziamento mediante next generation sequencing di pazienti con malattie neurologiche rare al fine di identificare possibili malattie metaboliche sottostanti trattabili farmacologicamente.

Infine, e' stato condotto dal Dr. Monfrini uno studio su pazienti con malattie neurologiche non diagnosticate e deficit di coenzima Q10 in collaborazione con la Prof.ssa Quinzii che ha portato alla definizione della causa genetica di diversi casi ad oggi irrisolti, e non associati a deficit di questo enzima. I risultati sono stati pubblicati sulla rivista Neurology.

Studi sui modelli cellulari di neurodegenerazione

Nel 2023 sono stati portati avanti progetti di ricerca focalizzati sull'impiego di modelli cellulari derivati da cellule staminali pluripotenti indotte per lo studio della malattia di Parkinson e dei parkinsonismi e ne sono stati avviati di nuovi nell'ambito di collaborazioni. E' in corso di valutazione per pubblicazione il progetto condotto dal Dr. Frattini su organoidi di pazienti con malattia di Parkinson e varianti genetiche del gene GBA1. E' stato terminato il progetto condotto dalla Dott.ssa Trezzi focalizzato sul ruolo del recettore del glutammato nella malattia di Parkinson associata a mutazioni del gene Parkina, per cui è ora in fase di stesura del manoscritto per pubblicazione. Il dr. Biella ha coordinato come lab manager tutta l'attività di coordinamento dei reagenti e delle culture cellulari. La Dott.ssa Magni e il Dott. Frattini hanno avviato uno studio su organoidi striatali di pazienti affetti da atrofia multisistemica volto alla riproduzione della patologia di alfa sinucleina in questo innovativo modello. Infine, è iniziato il secondo anno del progetto coordinato dalla Prof. Arianna Bellucci dell'Università di Brescia e finanziato dalla Michael J. Fox Foundation, su organoidi mesencefalici di malattia di Parkinson con mutazioni nel gene alfa sinucleina generati nel nostro laboratorio, che ha come obiettivo lo screening di molecole sperimentali che agiscono sugli aggregati patologici di alfa sinucleina. Infine la dottoressa Magni sta generando organoidi cerebellari per lo studio ideato dal dr. Monfrini per comprendere i meccanismi patogenetici del gene Neurofascina, il progetto è supportato dall'Associazione Amici di Gloria e Samuel.

Trials Clinici e Farmacologici

Nel corso dell'anno 2023 le attività del gruppo di ricerca dedicato alla malattia di Parkinson ed altri disturbi del movimento ha iniziato nuove sperimentazioni per la malattia di Parkinson e per i parkinsonismi.

A giugno 2023 è iniziata la sperimentazione di fase 2° ATH434 per i pazienti con atrofia multisistemica. Il centro ha arruolato in tempi molto stretti otto pazienti che stanno attivamente continuando la sperimentazione, E' inoltre iniziata la sperimentazione con un anticorpo monoclonale contro l'alfa sinucleina sempre per i pazienti con atrofia multisistemica. Infine è iniziato a dicembre 2023 ed in corso per tutto il 2024 un trial per i pazienti con m. di Parkinson e mutazioni del gene GBA con un attivatore dell'enzima glucocerebrosidasi BIA28.

Finanziamenti e grants

EJP-RD Joint Transnational Call. European Grant for rare Diseases 2022 “PreDYT: *PREDictive biomarkers in DYsTonia: defining the paradigm of monogenic dystonia to implement the diagnosis and prognosis of undiagnosed forms*” Total Funds: 1,571,449

Ricerca corrente Reti IRCCS: Genetic and biological markers in neurodegenerative diseases: focus on cognitive decline and inflammation.

Michael J Fox Foundation: Progetto “Testing MPH as a novel neuroprotective therapy in pre-clinical models of Parkinson’s Disease”

Sanofi: Progetto “lysoNEXT”

Collaborazioni scientifiche

È stata avviata una collaborazione con il Prof. Michael Zech dell'Università di Monaco per un progetto di ricerca volto allo studio di modelli cellulari avanzati di forme genetiche di distonia e finanziato dal programma europeo sulle malattie rare EJP RD. Nell'ambito dei progetti sugli organoidi mesencefalici per lo studio della malattia di Parkinson, sono proseguiti i progetti di collaborazione con i laboratori del Prof. Thomas Wisniewski della New York University per la caratterizzazione neuropatologica dei modelli 3D e con il gruppo della Prof.ssa Arianna Bellucci dell'Università di Brescia per l'identificazione delle forme aggregate di alfa sinucleina. È in corso una collaborazione con l'Università di Grenoble (Prof.ssa Elena Moro) per lo studio genetico di pazienti affetti da distonia e disturbi del movimento rari.

Attività di assistenza

L'attività clinico assistenziale è stata implementata sia in termini di gestione dei pazienti ricoverati nell'Unità Operativa di Neurologia, sia in termini di pazienti ambulatoriali. E' stato rinnovato il sostegno da parte della Fresco Institute Center of Excellence, che sostiene le attività di ricerca a assistenziale di due persone del team di ricerca, la Dr.ssa Franco e il Dr. Frattini, che insieme alla dr.ssa Trezzi e al dr. Monfrini nel corso del 2022 si sono dedicati a implementare gli ambulatori dedicati alle persone con m. di Parkinson studi sui disturbi del movimento. Altri due ambiti di ricerca clinica sono stati condotti dal team, in particolare dalla dr.ssa Arienti che ha coordinato uno studio nazionale multicentrico sulla familiarità nella malattia di Parkinson, e dalla dr.ssa Lazzeri che fino a settembre 2023 ha collaborato con il gruppo di internisti specializzati nello studio della disautonomia per studiare gli aspetti disautonomici della malattia di Parkinson e della MSA.

Lavori scientifici

Di Rauso G, Castellucci A, Cavallieri F, Tozzi A, Fioravanti V, Monfrini E, Gessani A, Rossi J, Campanini I, Merlo A, Ronchi D, Napoli M, Pascarella R, Grisanti S, Ferrulli G, Sabadini R, Di Fonzo A, Ghidini A, Valzania F.

Speech, Gait, and Vestibular Function in Cerebellar Ataxia with Neuropathy and Vestibular Areflexia Syndrome.

Brain Sci. 2023 Oct 17;13(10):1467. doi:10.3390/brainsci13101467. PMID: 37891834; PMCID: PMC10605709.

Avenali M, Zangaglia R, Cuconato G, Palmieri I, Albanese A, Artusi CA, Bozzali M, Calandra-Buonaura G, Cavallieri F, Cilia R, Cocco A, Cogiamanian F, Colucci F, Cortelli P, Di Fonzo A, Eleopra R, Giannini G, Imarisio A, Imbalzano G, Ledda C, Lopiano L, Malaguti MC, Mameli F, Minardi R, Mitrotti P, Monfrini E, Spagnolo F, Tassorelli C, Valentino F, Valzania F, Pacchetti C, Valente EM; PARKNET Study Group.

Are patients with GBA-Parkinson disease good candidates for deep brain stimulation? A longitudinal multicentric study on a large Italian cohort.

J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2023 Oct 25:jnnp-2023-332387. doi:10.1136/jnnp-2023-332387. Epub ahead of print. PMID: 37879897.

Riboldi GM, Di Fonzo AB, Stephen CD.

Editorial: Genetic advances and translational applications in movement disorders.

Front Neurol. 2023 Sep 20;14:1280958. doi: 10.3389/fneur.2023.1280958. PMID: 37799287; PMCID: PMC10548374.

Cocuzza A, Difonzo T, Aiello EN, Sbrissa LPE, Zago S, Gendarini C, Sirtori MA, Poletti B, Ticozzi N, Franco G, Di Fonzo A, Comi GP, Saetti MC.

Verbal Learning Impairment in Parkinson's Disease: Role of the Frontostriatal System in Working and Strategic Memory.

Neurodegener Dis. 2023;23(1-2):20-24. doi:10.1159/000534307. Epub 2023 Sep 27. PMID: 37757782.

Di Fonzo A, Percetti M, Monfrini E, Palmieri I, Albanese A, Avenali M, Bartoletti-Stella A, Blandini F, Brescia G, Calandra-Buonaura G, Campopiano R, Capellari S, Colangelo I, Comi GP, Cuconato G, Ferese R, Galandra C, Gambardella S, Garavaglia B, Gaudio A, Giardina E, Invernizzi F, Mandich P, Mineri R, Panteghini C, Reale C, Trevisan L, Zampatti S, Cortelli P, Valente EM; PARKNET study group.

Harmonizing Genetic Testing for Parkinson's Disease: Results of the PARKNET Multicentric Study.

Mov Disord. 2023 Dec;38(12):2241-2248. doi:10.1002/mds.29617. Epub 2023 Sep 26. PMID: 37750340.

Malaguti MC, Fonzo AD, Longo C, Giacompo RD, Papagno C, Donner D, Rozzanigo U, Monfrini E.

A novel pathogenic PSEN1 variant in a patient with dystonia-parkinsonism without dementia.

J Mov Disord. 2023 Sep 14. doi:10.14802/jmd.23125. Epub ahead of print. PMID: 37704566.

Erro R, Lazzeri G, Gigante AF, Pilotto A, Magistrelli L, Bologna M, Terranova C, Olivola E, Dallochio C, Moschella V, Valentino F, Di Biasio F, Nicoletti A, De Micco R, Brusa L, Sorrentino C, Matinella A, Bertino S, Paparella G, Modugno N, Contaldi E, Padovani A, Di Fonzo A, Restaino M, Barone P;

TITAN study group. Clinical correlates of "pure" essential tremor: the TITAN study.

Front Neurol. 2023 Aug 23;14:1233524. doi: 10.3389/fneur.2023.1233524. PMID: 37681007; PMCID: PMC10481166.

Monfrini E, Di Fonzo A, Morgante F.

Chorea-Acanthocytosis Presenting with Parkinsonism-Dystonia without Chorea.

Mov Disord Clin Pract. 2023 Aug 24;10(Suppl 3):S32-S34. doi: 10.1002/mdc3.13771. PMID: 37636221; PMCID: PMC10448615.

Monfrini E, Borellini L, Zirone E, Yahya V, Mauri E, Molisso MT, Mameli F, Ruggiero F, Comi GP, Barbieri S, Di Fonzo A, Dilella R.

GABRB1-related early onset developmental and epileptic encephalopathy: Clinical trajectory and novel de novo mutation.

Epileptic Disord. 2023 Dec;25(6):867-873. doi:10.1002/epd2.20132. Epub 2023 Aug 7. PMID: 37518907.

- Monfrini E, Pelucchi S, Hollmén M, Viitala M, Mariani R, Bertola F, Majore S, Di Fonzo A, Piperno A.
A form of inherited hyperferritinemia associated with bi-allelic pathogenic variants of STAB1.
Am J Hum Genet. 2023 Aug 3;110(8):1436-1443. doi: 10.1016/j.ajhg.2023.07.004. Epub 2023 Jul 24. PMID:37490907; PMCID: PMC10432174.
- Biagioli N, Cavallieri F, Marti A, Di Rauso G, Fioravanti V, Monfrini E, Gasparini F, Beltrami D, Grisanti S, Rossi J, Toschi G, Fraternali A, Versari A, Napoli M, Pascarella R, Di Fonzo A, Valzania F.
Levodopa responsive asymmetric parkinsonism as clinical presentation of progranulin gene mutation.
J Neurol Sci. 2023 Aug 15;451:120737. doi: 10.1016/j.jns.2023.120737. Epub 2023 Jul 17. PMID: 37487280.
- Harrer P, Škorvánek M, Kittke V, Dzinovic I, Borngräber F, Thomsen M, Mandel V, Svorenova T, Ostrozovicova M, Kulcsarova K, Berutti R, Busch H, Ott F, Kopajtich R, Prokisch H, Kumar KR, Mencacci NE, Kurian MA, Di Fonzo A, Boesch S, Kühn AA, Blümlein U, Lohmann K, Haslinger B, Weise D, Jech R, Winkelmann J, Zech M.
Dystonia Linked to EIF4A2 Haploinsufficiency: A Disorder of Protein Translation Dysfunction.
Mov Disord. 2023 Oct;38(10):1914-1924. doi:10.1002/mds.29562. Epub 2023 Jul 23. PMID: 37485550.
- Di Fonzo A, Jinnah HA, Zech M.
Dystonia genes and their biological pathways.
Int Rev Neurobiol. 2023;169:61-103. doi: 10.1016/bs.irm.2023.04.009. Epub 2023 May 5. PMID: 37482402.
- Erro R, Monfrini E, Di Fonzo A.
Early-onset inherited dystonias versus late-onset idiopathic dystonias: Same or different biological mechanisms?
Int Rev Neurobiol. 2023;169:329-346. doi: 10.1016/bs.irm.2023.05.002. Epub 2023 Jun 27. PMID: 37482397.
- Vigano' M, Mantero V, Basilico P, Pirro F, Ronchi D, Di Fonzo A, Salmaggi A.
Don't forget Allgrove syndrome in adult patients as a bulbar-ALS mimicker.
Neurol Sci. 2023 Oct;44(10):3703-3705. doi: 10.1007/s10072-023-06961-z. Epub 2023 Jul 17. PMID: 37458842.
- Di Biasio F, Lazzeri G, Monfrini E, Mandich P, Trevisan L, Morbelli S, Markushi TB, Avanzino L, Di Fonzo A.
The unexpected finding of CNS autoantibodies in GBA1 mutation carriers with atypical parkinsonism.
J Neuropathol Exp Neurol. 2023 Aug 21;82(9):818-820. doi: 10.1093/jnen/nlad055. PMID: 37428899.
- Spagnolo F, Monfrini E, Pinto V, Di Maggio G, De Marco P, Comi GP, Rini A, Di Fonzo A.
Tremulous spastic ataxia in a patient with a homozygous truncating <i>SYNE1</i> variant.
Clin Park Relat Disord. 2023 Jun 7;9:100205. doi:10.1016/j.prdoa.2023.100205. PMID: 37388713; PMCID: PMC10300247.
- Bitetto G, Lopez G, Ronchi D, Pittaro A, Melzi V, Peverelli E, Cribiù FM, Comi GP, Mantovani G, Di Fonzo A.
SCARB1 downregulation in adrenal insufficiency with Allgrove syndrome.
Orphanet J Rare Dis. 2023 Jun 19;18(1):152. doi:10.1186/s13023-023-02763-w. PMID: 37331934; PMCID: PMC10278336.
- 19: Satolli S, Di Fonzo A, Zanobio M, Pezzullo G, De Micco R.
Kufor Rakeb syndrome without gaze palsy and pyramidal signs due to novel ATP13A2 mutations.
Neurol Sci. 2023 Oct;44(10):3723-3725. doi: 10.1007/s10072-023-06899-2. Epub 2023 Jun 12. PMID: 37306797.
- Monfrini E, Pesini A, Biella F, Sobreira CFR, Emmanuele V, Brescia G, Lopez LC, Tadesse S, Hirano M, Comi GP, Quinzii CM, Di Fonzo A.
Whole-Exome Sequencing Study of Fibroblasts Derived From Patients With Cerebellar Ataxia Referred to Investigate CoQ10 Deficiency.
Neurol Genet. 2023 Mar 14;9(2):e200058. doi:10.1212/NXG.0000000000200058. PMID: 37090936; PMCID: PMC10117701.

- Messelodi D, Strocchi S, Bertuccio SN, Baden P, Indio V, Giorgi FM, Taddia A, Serravalle S, Valente S, di Fonzo A, Frattini E, Bernardoni R, Pession A, Grifoni D, Deleidi M, Astolfi A, Pession A.
Neuronopathic Gaucher disease models reveal defects in cell growth promoted by Hippo pathway activation.
Commun Biol. 2023 Apr 19;6(1):431. doi: 10.1038/s42003-023-04813-2. PMID: 37076591; PMCID: PMC10115838.
- Cilia R, Cereda E, Piatti M, Pilotto A, Magistrelli L, Golfrè Andreasi N, Bonvegna S, Contaldi E, Mancini F, Imbalzano G, De Micco R, Colucci F, Braccia A, Bellini G, Brovelli F, Zangaglia R, Lazzeri G, Russillo MC, Olivola E, Sorbera C, Cereda V, Pinto P, Sucapane P, Gelosa G, Meloni M, Pistoia F, Sessa M, Canesi M, Modugno N, Pacchetti C, Brighina L, Pellicchia MT, Ceravolo R, Sensi M, Zibetti M, Comi C, Padovani A, Zecchinelli AL, Di Fonzo A, Tessitore A, Morgante F, Eleopra R.
Levodopa Equivalent Dose of Sildenafil: A Multicenter, Longitudinal, Case-Control Study.
Mov Disord Clin Pract. 2023 Feb15;10(4):625-635. doi: 10.1002/mdc3.13681. PMID: 37070060; PMCID: PMC10105110.
- Percetti M, Monfrini E, Caporali L, Minardi R, Carelli V, Valente EM, Di Fonzo A.
Reply to: "Lack of Association between TWNK Rare Variants and Parkinson's Disease in a Chinese Cohort".
Mov Disord. 2023 Apr;38(4):709-710. doi: 10.1002/mds.29373. PMID: 37061879.
- Yahya V, Di Fonzo A, Monfrini E.
Genetic Evidence for Endolysosomal Dysfunction in Parkinson's Disease: A Critical Overview.
Int J Mol Sci. 2023 Mar28;24(7):6338. doi: 10.3390/ijms24076338. PMID: 37047309; PMCID: PMC10094484.
- Cavallieri F, Cury RG, Guimarães T, Fioravanti V, Grisanti S, Rossi J, Monfrini E, Zedde M, Di Fonzo A, Valzania F, Moro E.
Recent Advances in the Treatment of Genetic Forms of Parkinson's Disease: Hype or Hope?
Cells. 2023 Feb27;12(5):764. doi: 10.3390/cells12050764. PMID: 36899899; PMCID: PMC10001341.
- Argenziano G, Cavallieri F, Monfrini E, Gessani A, Russo M, Rizzi R, Fioravanti V, Grisanti S, Toschi G, Napoli M, Pascarella R, Budriesi C, Di Fonzo A, Zucco R, Valzania F.
Deconstructing speech alterations in episodic ataxia type 2: Perceptual-acoustic analysis in a case due to CACNA1A gene mutation.
Parkinsonism Relat Disord. 2023 Mar;108:105311. doi:10.1016/j.parkreldis.2023.105311. Epub 2023 Feb 13. PMID: 36805178.
- Henkel LM, Kankowski S, Moellenkamp TM, Smandzich NJ, Schwarz S, Di Fonzo A, Göhring G, Höglinger G, Wegner F.
iPSC-Derived Striatal Medium Spiny Neurons from Patients with Multiple System Atrophy Show Hypoexcitability and Elevated α -Synuclein Release.
Cells. 2023 Jan 4;12(2):223. doi: 10.3390/cells12020223. PMID: 36672158; PMCID: PMC9856678.
- Palermo G, Di Fonzo A, Francesconi A, Unti E, Ceravolo R.
Two cases of Huntington's disease unmasked by the COVID-19 pandemic.
Neurol Sci. 2023 Mar;44(3):811-813. doi: 10.1007/s10072-022-06564-0. Epub 2022 Dec 29. PMID:36580215; PMCID: PMC9797887.
- Cas MD, Casati S, Roda G, Pablo Sardi S, Paroni R, di Fonzo A, Trincherà M.
A sensitive method for determining UDP-glucose: ceramide glucosyltransferase (UGCG) activity in biological samples using deuterated glucosylceramide as acceptor substrate.
Glycobiology. 2023 Mar 6;33(2):88-94. doi:10.1093/glycob/cwac081. PMID: 36504340.
- Meloni M, Agliardi C, Guerini FR, Zanzottera M, Bolognesi E, Picciolini S, Marano M, Magliozzi A, Di Fonzo A, Arighi A, Fenoglio C, Franco G, Arienti F, Saibene FL, Navarro J, Clerici M.
Oligomeric α -synuclein and tau aggregates in NDEVs differentiate Parkinson's disease from atypical parkinsonisms.
Neurobiol Dis. 2023 Jan;176:105947. doi: 10.1016/j.nbd.2022.105947. Epub 2022 Dec 5. PMID:36481435.

Di Fonzo A, Zech M.

Nuclear Pore Complex Dysfunction in Dystonia Pathogenesis: Nucleoporins in the Spotlight.

Mov Disord. 2023 Jan;38(1):23-24.doi: 10.1002/mds.29289. Epub 2022 Nov 24. PMID: 36426380.

Fioravanti V, Cavallieri F, Di Fonzo A, Toschi G, Grisanti S, Salomone G, Zappia M, Valzania F.

Axial Improvement after Casirivimab/Imdevimab Treatment for COVID-19 in Parkinson's Disease.

Can J Neurol Sci. 2023 Sep;50(5):777-778.doi: 10.1017/cjn.2022.269. Epub 2022 Jun 29. PMID: 35766155.

Lizzio RAU, Monfrini E, Romano S, Brescia G, Vujosevic S, Sacchi M, Di Fonzo A, Nucci P.

Genetic evaluation in phenotypically discordant monozygotic twins with Coats Disease.

Eur J Ophthalmol. 2023 Jul;33(4):NP1-NP4. doi:10.1177/11206721221107798. Epub 2022 Jun 9. PMID: 35679086.

Monfrini E, Arienti F, Rinchetti P, Lotti F, Riboldi GM.

Brain Calcifications: Genetic, Molecular, and Clinical Aspects.

Int J Mol Sci. 2023 May 19;24(10):8995. doi: 10.3390/ijms24108995. PMID: 37240341; PMCID: PMC10218793.

Rapporti di collaborazione nazionali:

- Stefano Ferrero Bogetto, **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
- Lorenza Lazzari **Cell Factory Center for Transfusion Medicine, Cell Therapy and Criobiology, Department of Regenerative Medicine, Fondazione IRCCS Cà Granda Ospedale Maggiore Policlinico di Milano**
- Elena Cattaneo, **Department of Biosciences and Centre for Stem cell Research, Università degli Studi di Milano**
- Prof. Lorenza Lazzari, **Department of Regenerative Medicine, Fondazione IRCCS Cà Granda Ospedale Maggiore Policlinico di Milano**
- Dr. Massimo Aureli, **Università Degli Studi di Milano, Ospedale san Raffaele, Milano**
- Dr. Franco Taroni – **IRCCS Istituto C. Besta, Milano**
- Prof. Fabio Triulzi, Dott. Alessandro Sillani, Dott.ssa Clara Sina, Dott. Giorgio Conte, Ing. Valeria Contarino, **IRCCS Ca' Granda – Ospedale Maggiore Policlinico, Milano**
- Dott. Rosanna Asselta - **Dipartimento di Biotecnologie Mediche e Medicina Traslazionale, Università degli Studi di Milano, Milano, Italy.**
- Prof. Jenny Sassone Pagano, **Università Vita-Salute San Raffaele**
- Prof. Elisa Greggio, **Università degli Studi di Padova**
- Prof. Mario Bortolozzi, **Veneto Institute of Molecular Medicine**
- Prof. Fabio Moda, **Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta**
- Prof. Arianna Bellucci, **Università degli Studi di Brescia**

Rapporti di collaborazione internazionali:

- Prof. Michela Deleidi, **Institut Imagine, Parigi, Francia**
- Prof. Glenda Halliday, **University of Sydney, Australia**
- Prof. Catarina Quinzii, PhD, **Columbia University, New York, N.Y., USA**
- NYU Movement Disorders, **Fresco Institute for Parkinson's Disease, New York University – USA**
- Prof. Elena Moro, **Department of Psychiatry and Neurology, University Hospital Center of Grenoble, FRANCE**
- Prof. Ari Zimran - **Gaucher Unit, Shaare Zedek Medical Center, Jerusalem, Israel; Faculty of Medicine, Hebrew University, Jerusalem, Israel.**
- Prof. Mia Horowitz - **Schmunis School of Biomedicine and Cancer Research, Tel Aviv University, Tel Aviv, Israel.**
- Dr. Michael Zech - **Institute of Neurogenomics, Helmholtz Zentrum München, Munich, Germany.**
- Prof. Marie Vidailhet - **Department of Neurology, Salpêtrière Hospital, Sorbonne University, University Pierre and Marie Curie, ICM Research Centre.**
- Prof. Enrico Glaab - **Luxembourg Centre for Systems Biomedicine, University of Luxembourg, Esch-sur-Alzette, Luxembourg.**
- Dr. Manuel Schroeter - **ETH Zurich, Department of Biosystems Science and Engineering in Basel, Switzerland.**
- Prof. Jens Schwamborn, **University of Luxembourg**
- Prof. Nicolas Tritsch, **New York University Langone**
- Prof. Thomas Wisniewsky, **New York University Langone**

LABORATORIO CELLULE STAMINALI

RESPONSABILE:

Professor Yvan Torrente

PERSONALE:

Marzia Belicchi biologa

Mirella Meregalli biologa

Andrea Farini biologo, PostDoc, Ricercatore sanitario ospedaliero (piramidato)

Silvia Erratico biotecnologa, contrattista

Chiara Villa, bioingegnere, PostDoc, ricercatore

Luana Tripodi, biologa

Rebecca Oddone, biotecnologa

Alice Diroma, biologa

Monica Molinaro, biologa

Federica Santarelli, biologa

Debora Mostosi, biologa

Francesca Florio, biologa

Stefano Arpilli, studente della facoltà di biologia

Shahrzad Goldar, studente della facoltà di biologia

Consuntivo dell'attività di ricerca svolta nel corso dell'anno 2023 da parte del gruppo di lavoro, diretto dal Prof. Yvan Torrente, attivo presso il Laboratorio Cellule Staminali - "Centro Dino Ferrari" dell'Università degli Studi di Milano.

Durante l'anno 2023 il gruppo di lavoro diretto dal professor Torrente ha concentrato i propri studi nell'ambito delle patologie neuromuscolari e neurodegenerative, patologie ancora oggi spesso prive di cure risolutive.

Anche quest'anno i progetti di ricerca sviluppati nel Laboratorio del prof. Torrente sono stati inerenti a due filoni sperimentali: uno, iniziato da qualche anno, relativo allo studio del ruolo del sistema immunitario e, in particolare, del microbiota nelle distrofie muscolari. Un altro riguardante le nanotecnologie e una loro possibile applicazione in approcci terapeutici nel campo delle patologie neurodegenerative. Sono stati ampliate anche altre linee di ricerca frutto di collaborazioni scientifiche nazionali ed internazionali.

Ruolo dell'immunità nelle distrofie muscolari

Studi recenti hanno dimostrato che il microbiota intestinale nei disturbi muscolo-scheletrici, come la distrofia muscolare di Duchenne svolge un ruolo importante.

Sfortunatamente, ad oggi **non è ancora disponibile una cura per la distrofia muscolare di Duchenne (DMD)**, sebbene le terapie sperimentali abbiano fatto importanti progressi nel corso degli anni. Per questo motivo, i farmaci immunosoppressori, come i glucocorticoidi, sono le uniche terapie efficaci per ritardare l'insorgenza e controllare i sintomi, migliorando la deambulazione e la funzione muscolare, ma il loro utilizzo nei pazienti è ancora limitato da gravi effetti collaterali.

Lo sviluppo di infiammazioni croniche, come nel caso della DMD, in cui si osserva una rigorosa regolazione dei fattori epigenetici, delle componenti genetiche e dell'ambiente non possono essere spiegati solo da difetti genetici a carico del muscolo scheletrico. In particolare, l'immunità intrinseca ambientale (immunità innata e adattativa) e i meccanismi estrinseci (come la nutrizione) sono collegati fra loro in modo ben definito e delle loro alterazioni sono la principale causa dello sviluppo di condizioni infiammatorie croniche. Pertanto, le alterazioni delle comunità microbiche intestinali (disbiosi) possono causare disregolazione immunitaria e sindrome metabolica, contribuendo a numerose malattie di diversa eziologia. La popolazione del microbiota è estremamente variabile tra gli individui e la sua composizione dipende dalle risposte immunitarie mediate dall'intestino e dai genotipi/fenotipi dell'ospite. Di conseguenza, l'omeostasi intestinale viene mantenuta attraverso l'interazione tra microbiota e cellule immunitarie intestinali. In qualche modo la modulazione del microbiota intestinale può anche alterare le molecole regolatrici secrete dai muscoli scheletrici e dei tessuti adiposi (miochine e adipochine).

I pazienti distrofici presentano alterazioni della motilità gastrointestinale, soffrono di stitichezza e pseudo-ostruzione ed è stata osservata anche la presenza di fibrosi nella muscolatura liscia di tutto il tratto gastrointestinale. Inoltre, anche nei topi mdx, modello murino di distrofia muscolare, sono presenti disturbi della contrattilità intestinale, legati a importanti anomalie della morfologia epiteliale della mucosa (villi più ampi, ridotta strato muscolare e sottomucosa), normalmente associati a uno stato infiammatorio e soprattutto alla produzione di ossido nitrico (NO).

Queste evidenze hanno confermato la presenza di un pathway mediato dall'asse muscolo-intestino che contribuisce a pregiudicare la fisiopatologia della DMD. La modulazione del microbiota è responsabile del cambiamento delle caratteristiche immunologiche e infiammatorie in organi distanti dall'intestino. Molecole infiammatorie derivanti dalla perdita del microbiota, dovuta ad una interruzione della barriera intestinale, nei topi mdx determinano l'attivazione di cellule infiammatorie e la loro circolazione nel sangue fino ad arrivare nei muscoli dove modulano il sistema immunitario e peggiorano il fenotipo distrofico. E' possibile immaginare una connessione tra microbiota intestinale, sistema immunitario e omeostasi muscolare, ma i dettagli molecolari di questa cascata di eventi nella distrofia muscolare non sono ancora chiari. In uno studio pubblicato quest'anno sulla rivista scientifica internazionale "**Embo Molecular Medicine**" il professor Torrente e il suo gruppo di lavoro hanno indagato se i batteri intestinali fossero in grado di supportare la risposta immunitaria

muscolare nel modello murino di distrofia muscolare, il topo mdx. In questo studio è stata evidenziata una forte correlazione tra le caratteristiche della DMD e la relativa abbondanza del batterio Prevotella che, nell'intestino crea un microbiota altamente infiammato. Inoltre, nel lavoro viene dimostrato che l'assenza di microbi intestinali nel modello murino distrofico mdx germ-free, così come la modulazione della composizione microbica determinata dal trattamento antibiotico, sono in grado di influenzare l'immunità muscolare e la fibrosi. La colonizzazione dell'intestino dei topi mdx con il microbiota eubiotico è risultata infatti sufficiente ed efficiente per ridurre l'infiammazione e migliorare la patologia e la funzione muscolare. Questo studio, quindi, identifica un potenziale ruolo del microbiota intestinale nella patogenesi della DMD.

Nanotecnologie e una loro possibile applicazione in approcci terapeutici

Le nanotecnologie rappresentano tecnologie su scala nanometrica, prevedendo l'utilizzo di nanomateriali in applicazioni scientifiche e tecnologiche.

Particelle di diversa natura (metalli, ossidi, plastiche, molecole biologiche) con dimensioni comprese tra i 10 e i 100 nanometri riescono, grazie a una serie di caratteristiche fisico-chimiche, ad interagire con i più svariati substrati, influenzandone il comportamento e, in molti casi, ne migliorano le prestazioni. Spesso alcuni interventi clinici che prevedevano l'utilizzo di piccoli farmaci sono falliti per la difficoltà dei farmaci stessi di attraversare la barriera sanguigna ed ematoencefalica. In tal senso, le nanotecnologie possono trasferire in modo specifico un farmaco, incrementandone la biodisponibilità, superando una delle sfide più difficili nel trattamento delle patologie neurodegenerative. In una review, pubblicata quest'anno sulla rivista scientifica **“Brain”**, il gruppo di ricerca diretto dal prof. Torrente ha descritto l'uso delle nanotecnologie come approccio terapeutico incoraggiante mirato ai pathway molecolari coinvolti nelle malattie neurodegenerative localizzate e sistemiche. Tra questi ultimi, l'ataxia di Friedreich che è un disturbo multisistemico complesso ancora oggi incurabile ed è la tipologia di ataxia più diffusa, rappresenta un ambizioso banco di prova per validare il potenziale clinico di strategie terapeutiche basate sull'utilizzo di nanoparticelle con effetti pleiotropici.

Linee di ricerca nate da collaborazioni nazionali e internazionali

Durante il 2023 è proseguita la proficua 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. Tale collaborazione ha permesso al gruppo di ricerca diretto dal prof. Torrente di pubblicare sulla rivista scientifica internazionale **“Biology Direct”** un lavoro in cui sono stati ottenuti fibroblasti cardiaci a partire da cellule staminali pluripotenti indotte denominate (iPSCs) di soggetti sani e di pazienti affetti da DMD con diverse tipologie di mutazioni (hiPSC-fbs). La perdita dell'isoforma full-length della distrofina nei fibroblasti cardiaci derivati da hiPSC di pazienti con DMD determina una diminuzione della capacità di formare microfilamenti di actina e il passaggio da metabolismo mitocondriale ossidativo a glicolitico.

Le hiPSC-fbs distrofiche mostrano un pathway mitocondriale disregolato e una ridotta respirazione mitocondriale, con una maggiore glicolisi compensatoria per sostenere la produzione di ATP cellulare. Questo rimodellamento metabolico è associato ad un fenotipo esacerbato dei miofibroblasti e ad un aumento dell'attivazione dei fibroblasti in risposta a cambiamenti a favore del differenziamento fibrotico. Poiché la fibrosi cardiaca è una caratteristica patologica critica del cuore DMD, il fenotipo dei miofibroblasti indotto dall'assenza di distrofina può contribuire al deterioramento della funzione cardiaca. Questo studio evidenzia la relazione tra dinamica del citoscheletro, metabolismo della cellula e differenziamento miofibroblastico e fornisce un nuovo meccanismo attraverso il quale l'inattivazione della distrofina nelle cellule non cardiomiocitarie potrebbe portare ad un incremento della severità della cardiopatia. Quest'anno la collaborazione con il prof. Cossu ha portato il prof. Torrente a pubblicare sulla rivista scientifica **“Frontiers in genetics”** una review in cui gli autori hanno ripercorso la storia dei mesangioblasti, descritti per la prima volta nel 2002 dal gruppo di ricerca del prof. Cossu, come progenitori associati ai vasi. La

possibilità che queste cellule potessero essere isolate anche da muscoli umani, potessero essere espanse in vitro e avessero la capacità di attraversare i vasi, ha portato i ricercatori a sviluppare un protocollo per la terapia cellulare delle distrofie muscolari. Tale protocollo è stato validato con esperimenti preclinici condotti su topi e su cani prima di procedere al primo studio clinico su pazienti affetti da distrofia muscolare di Duchenne che ha mostrato un buon livello di sicurezza ma una ridotta efficacia.

Negli ultimi anni i ricercatori si sono concentrati proprio per cercare di superare il problema dello scarso attecchimento e di riuscire a comprendere il ruolo dei mesangioblasti come progenitori miogenici ausiliari durante lo sviluppo e la rigenerazione muscolare.

Anche un'altra collaborazione con il gruppo di ricerca diretto dal professor Biressi del CIBIO di Trento, ha permesso al prof. Torrente di pubblicare nell'anno 2023 sulla rivista scientifica **“Embo Molecular Medicine”**, un lavoro in cui gli autori studiano la fibrosi che caratterizza i muscoli distrofici attraverso analisi molecolari condotte su tessuti muscolari di pazienti affetti da DMD e di modelli murini di distrofia muscolare. Gli autori suggeriscono un link casuale tra la sovraregolazione del complemento C1 e l'accumulo di tessuto fibrotico tipico del contesto distrofico. Gli autori suggeriscono che i progenitori fibro-adipogenici (FAPs) e i macrofagi, presenti nei muscoli distrofici, possano agire insieme per attivare WNT secernendo subunità distinte del complesso del complemento C1. Tale attivazione aberrante del segnale WNT nelle cellule reattive, come appunto i progenitori fibro-adipogenici, contribuisce alla fibrosi. Infatti, l'inibizione farmacologica delle subunità C1r/s in un modello murino di DMD è in grado di mitigare l'attivazione della via di segnalazione WNT, ridurre le caratteristiche fibrogeniche dei progenitori fibro-adipogenici, e portare ad un miglioramento del fenotipo distrofico. Questi risultati rappresentano un primo passo verso l'identificazione dei meccanismi molecolari e cellulari responsabili della fibrosi nella distrofia muscolare e apre la strada a nuove strategie terapeutiche.

Da molti anni il prof. Torrente collabora con numerosi colleghi impegnati in attività di ricerca di base e ricerca 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 2023, la sinergia di diverse competenze cliniche e biologiche ha permesso la pubblicazione, sulla rivista internazionale **“Haematologica”**, di due lavori. Nel primo lavoro è stato studiato il long non-coding RNA NEAT1 in cellule umane di mieloma multiplo. Il long non-coding RNA NEAT1 è un componente strutturale nucleare delle paraspecole (PS) ed è già stato dimostrato essere coinvolto nella deregolazione del mieloma multiplo (MM). In questo studio viene mostrato che il silenziamento di NEAT1 impatta negativamente sulla proliferazione e sulla vitalità delle cellule di mieloma multiplo, sia in vitro che in vivo, suggerendo un ruolo nella riparazione dei danni al DNA (DDR). I ricercatori hanno dimostrato che la sovraespressione di NEAT1 è associata ad un incremento della sopravvivenza ed a una maggiore resistenza alle terapie oncologiche nelle cellule MM esposte a carenza di nutrienti o ad un microambiente ipossico, che sono condizioni di stress associate a molte forme tumorali aggressive. Questo studio fornisce nuove importanti informazioni sul ruolo di NEAT1 nel supportare l'adattamento delle cellule MM a condizioni stressanti migliorando il mantenimento dell'integrità del DNA. I risultati ottenuti suggeriscono infatti, che NEAT1, e probabilmente gli organelli PS, potrebbero rappresentare un potenziale bersaglio terapeutico per il trattamento del MM.

Nel secondo lavoro gli autori, per chiarire la rilevanza biologica e molecolare della sovraregolazione di NEAT1 nella malattia da MM, hanno sfruttato il sistema CRISPR/Cas9 per ingegnerizzare la linea cellulare AMO-1 MM e generare due cloni che transattivano para-fisiologicamente NEAT1 a diversi livelli. Inoltre, hanno evidenziato il coinvolgimento di NEAT1 in praticamente tutti i processi DDR attraverso almeno due meccanismi diversi. Da un lato NEAT1 regola positivamente la stabilizzazione post-traduzionale delle proteine essenziali delle PS, che sono coinvolte in quasi tutti i sistemi DDR, aumentandone così la disponibilità all'interno delle cellule. Dall'altro, NEAT1 svolge un ruolo cruciale come principale regolatore di un asse molecolare che include ATM e la subunità catalitica delle proteine DNA-PK chinasi e i loro bersagli diretti pRPA32 e pCHK2. Questo studio fornisce nuove importanti intuizioni sul ruolo di NEAT1 nel supportare l'adattamento delle cellule MM a

condizioni stressanti migliorando il mantenimento dell'integrità del DNA. Nel loro insieme i risultati presentati in questo lavoro suggeriscono che NEAT1, e probabilmente gli organelli PS, potrebbero rappresentare un potenziale bersaglio terapeutico per il trattamento del MM.

Durante il 2023 il professor Torrente ha continuato la sua attività di revisore di lavori scientifici per numerose 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), UNISTEM e della Commissione Scientifica TACT (TREAT-NMD Advisory Committee for Therapeutics). Infine, nel 2023 il prof. Torrente, ha continuato 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 Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, docente per il Corso di Fisiologia CdL Magistrale a ciclo unico in Farmacia – Facoltà di Scienze del Farmaco e docente per il VIII° modulo del Corso di Master in Farmacia e Farmacologia Oncologica del Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari. Inoltre è responsabile del Master in Single Cell analysis per il Corso di Dottorato di ricerca in Medicina Traslazionale – Università degli Studi di Milano.

PRODUTTIVITÀ SCIENTIFICA 2023

ELENCO PUBBLICAZIONI SU RIVISTE INTERNAZIONALI RECENSITE

Elisa Taiana, Cecilia Bandini, Vanessa Katia Favasuli, Domenica Ronchetti, Ilaria Silvestris, Noemi Puccio, Katia Todoerti, Silvia Erratico, Domenica Giannandrea, Niccolò Bolli, Nicola Amodio, Alessia Ciarrocchi, Raffaella Chiaramonte, Yvan Torrente, Roberto Piva, and Antonino Neri

Activation of long non-coding RNA NEAT1 leads to survival advantage of multiple myeloma cells

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

HAEMATOLOGICA Jan 1;108(1):219-233. **I.F.:** 11.04

Vanessa K. Favasuli, Domenica Ronchetti, Ilaria Silvestris, Noemi Puccio, Giuseppina Fabbiano, Valentina Traini, Katia Todoerti,6 Silvia Erratico, Alessia Ciarrocchi, Valentina Fragliasso, Domenica Giannandrea, Francesca Tumiatti, Raffaella Chiaramonte, Yvan Torrente, Palma Finelli, Eugenio Morelli, Nikhil C. Munshi, Niccolò Bolli, Antonino Neri and Elisa Taian

DIS3 depletion in multiple myeloma causes extensive perturbation in cell cycle progression and centrosome amplification

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

HAEMATOLOGICA Jan 1;2024: 231-244 **I.F.:** 14.049

Andrea Farini , Luana Tripodi , Chiara Villa , Francesco Strati , Amanda Facchetti , Guido Baselli, Jacopo Troisi, Annamaria Landolfi, Caterina Lonati, Davide Molinaro, Michelle Wintzinger, Stefano Gatti, Barbara Cassani, Flavio Caprioli, Federica Facciotti, Mattia Quattrocchi & Yvan Torrente

Microbiota dysbiosis influences immune system and muscle pathophysiology of dystrophin-deficient mice

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 15: e16244 | 2023 **I.F.: 14.005**

Miriam Mistretta, Andrea Farini, Yvan Torrente and Chiara Villa

Multifaceted nanoparticles: emerging mechanisms and therapies in neurodegenerative diseases

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

BRAIN 2023: 146; 2227–2240 **I.F.: 15.225**

Giulio Cossu, Rossana Tonlorenzi, Silvia Brunelli, Maurilio Sampaolesi, Graziella Messina, Emanuele Azzoni, Sara Benedetti, Stefano Biressi, Chiara Bonfanti, Laricia Bragg, Jordi Camps, Ornella Cappellari, Marco Cassano, Fabio Ciceri, Marcello Coletta, Diego Covarello, Stefania Crippa, M. Gabriella Cusella-De Angelis, Luciana De Angelis, Arianna Dellavalle, Jordi Diaz-Manera, Daniela Galli, Francesco Galli, Cesare Gargioli, Mattia F. M. Gerli, Giorgia Giacomazzi, Beatriz G. Galvez, Hidetoshi Hoshiya, Maria Guttinger, Anna Innocenzi, M. Giulia Minasi, Laura Perani, Stefano C Previtali, Mattia Quattrocchi, Martina Ragazzi, Urmas Roostalu, Giuliana Rossi, Raffaella Scardigli, Dario Sirabella, Francesco Saverio Tedesco, Yvan Torrente and Gonzalo Ugarte
Mesoangioblasts at 20: From the embryonic aorta to the patient bed

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 Genetics 13:1056114 **I.F.: 4.772**

Salwa Soussi, Lesia Savchenko, Davide Rovina, Jason S. Iacovoni¹, Andrea Gottinger, Maxime Viallettes, Josè-Manuel Pioner, Andrea Farini, Sara Mallia, Martina Rabino, Giulio Pompilio, Angelo Parini, Olivier Lairez, Aoife Gowran and Nathalie Pizzinat

IPSC derived cardiac fibroblasts of DMD patients show compromised actin microfilaments, metabolic shift and pro-fibrotic phenotype

Stem Cell Laboratory, Department of Pathophysiology and Transplantation, University of Milan, Unit of Neurology, Fondazione IRCCS Cà Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Dino Ferrari Center, 20122 Milan, Italy

Biology Direct (2023) 18:41 **I.F.: 5.5**

Francesca Florio, Sara Vencato, Filomena T Papal, Michela Libergoli¹, Eyemen Kheir, Imen Ghzaïl¹, Thomas A Rando, Yvan Torrente & Stefano Biressi

Combinatorial activation of the WNT-dependent fibrogenic program by distinct complement subunits in dystrophic muscle

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 e 15: e17405 | 2023 **I.F.: 14.005**

ELENCO DEI PROGETTI DI RICERCA FINANZIATI ED ANCORA IN CORSO

“Unsolved challenges in gut muscle axis pathways: the search for novel microbiota associated molecular predictors for Duchenne muscular dystrophy management”, PNRR: M6/C2_CALL 2022 (Project code PNRR-MAD-2022-12376828)

“Isolamento di nanoparticelle naturali da utilizzare come agenti anti-infiammatori/anti-fibrotici”, 5X1000, Fondazione Patrimonio e dalla Direzione Scientifica Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico. 2022

“Multiomics pRoFiling of patient spEcific Models to predict druggable targets in severe neuromuscular rare diseases (REMODEL)”, Unmet Medical Needs, Fondazione Regionale per la Ricerca Biomedica (FRRB), 2022

“At the origin of congenital muscular dystrophy: shedding light on the Tdark proteins DPM2 and DPM3”, Bando “Cariplo Telethon Alliance GJC2021”2022

“Nanoparticles in Freidreich Ataxia” National Center for Gene Therapy and Drugs based on RNA Technology, Spoke #1: Genetic diseases, PNRR CN3 RNA, 2022

“3D modelling of neuromuscular unit to discover pathogenetic mechanisms and therapeutics for motor neuron diseases”. Bando interno Fondazione Patrimonio e dalla Direzione Scientifica Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico. 2021

“Novel satellite cell heterogeneity in healthy and pathological regeneration”. AFM-TELTHON; 2021

“Piattaforme cellulari per la Ricerca e lo Sviluppo di Terapie Avanzate in Life Science” - Fondo Europeo di Sviluppo Regionale 2014-2020. POR FESR 2014-2020, Ricerca Innovazione. 2021

“Chondroitin sulfate proteoglycan-4, secreted by a binding imbalance between SP1 and NF-kB on CHST11 gene, triggers sympathetic cardiac denervation in Duchenne Muscular Dystrophy” - Fondazione Regionale per la Ricerca Biomedica EARLY CAREER AWARD; 2020

“Generation of suitable for beta-sarcoglycan delivery and targeting of cardiac and skeletal muscle as alternative therapy of LDMD2E” - Gruppo familiari beta-sarcoglicanopatie, PR-0394, GFB-ONLUS, 2020

“Engineered T cells (CAR-T) for the treatment of cardiac fibrosis in Duchenne Muscular Dystrophy” - SG-2019-12368961, Ricerca Finalizzata, 2019

“Una rete per terapie geniche e cellulari per malattie devastanti” (acronimo: PLAGENCELL) – Bando per il finanziamento di Progetti di Rete II Edizione – Fondazione Regionale per la Ricerca Biomedica, Regione Lombardia, 2019

ELENCO COLLABORAZIONI INTERNAZIONALI E NAZIONALI DEL LABORATORIO CELLULE STAMINALI

- 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 Bizario, AADM/UNAERP Ribeirao Preto, Sao Paulo, Brazil
- Humberto Cerrel Bazo, direttore Dipartimento Medicina riabilitativa AUSL Piacenza
- Adolfo Lopez de Munain Arregui, Grupo Nerogenética, 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 Fetalì 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 tudi 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 R&D Director- Qualified Person - Cell Factory SS Terapie Cellulari e Geniche, Fondazione IRCCS Cà Granda Ospedale Maggiore Policlinico di Milano
- Laura Porretti, referente del Servizio di Citofluorimetria e Core Facility di Citofluorimetria e Cell Sorting del Laboratorio Analisi, 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, Italy, IRCCS Azienda Ospedaliera Universitaria San Martino-IST, Genova, 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
- 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. Pierluigi 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
- Mattia Quattrocchi – Cincinnati Children's Hospital Medical Center, Department of Pediatrics, Heart Institute, University of Cincinnati College of Medicine and Molecular Cardiovascular Biology Division, Cincinnati, OH 45229, USA
- Massimiliano Pagani- Molecular Oncology and Immunology lab- IFOM, Università degli Studi di Milano
- Federica Facciotti- Istituto Europeo di Oncologia (IEO)-Università di Milano-Bicocca
- Flavio Caprioli- U-O. di Gastroenterologia ed Endoscopia Fondazione IRCCS Cà Granda Ospedale Maggiore Policlinico di Milano; Dipartimento di Fisiopatologia Medico-Chirurgica e dei Trapianti dell'Università degli Studi di Milano

STROKE UNIT

RESPONSABILE:

Dott. ssa Sara Bonato

MEDICI:

Dott.ssa Isabella Ghione

Dott.ssa Silvia Lanfranconi

Dott.ssa Megi Meneri

Dott. Gianluca Costamagna

Nel corso dell'anno 2023, in relazione alle più recenti linee guida internazionali, abbiamo applicato il percorso diagnostico-terapeutico assistenziale (PDTA) dell'ictus ischemico acuto di Fondazione, garantendo le più avanzate procedure diagnostiche che consentono l'ampliamento della finestra terapeutica fino a 24 ore dall'esordio del deficit neurologico.

Stiamo portando avanti la raccolta in un database dedicato in cui vengono raccolti, sia in modo retrospettivo che prospettico, i dati di tutti i pazienti ricoverati in Stroke Unit con diagnosi di ictus ischemico acuto. Tali dati vengono utilizzati nell'ambito di alcuni progetti di ricerca riguardanti la sicurezza e l'efficacia delle procedure di rivascolarizzazione in fase acuta in sottogruppi specifici.

1) Terapia in acuto dell'ictus ischemico lieve

Attraverso il punteggio NIHSS il deficit clinico derivante dallo stroke ischemico può essere quantificato e categorizzato in base alla gravità. Uno stroke con punteggio NIHSS < 6 viene definito lieve. La gestione terapeutica acuta dell'ictus ischemico lieve è particolarmente controversa. Mentre nel caso di ictus particolarmente gravi, il bilancio rischio/beneficio dell'intervento terapeutico di rivascolarizzazione (rtPA e/o trombectomia meccanica) tende a favorire l'intervento terapeutico, nei casi di ictus lieve, la scelta è più complessa. Ad oggi, esiste incertezza su quale sia la scelta terapeutica migliore per l'ictus ischemico lieve (NIHSS < 6). La letteratura scientifica è al momento lacunosa e le linee guida disponibili sono discordanti. In attesa di dati provenienti da trial randomizzati, l'obiettivo di questo studio è stato quello di valutare le caratteristiche clinico/radiologiche e l'outcome dei pazienti con ictus ischemico acuto lieve, trattati con solo rtPA vs pazienti trattati sia con rtPA che con trombectomia meccanica con l'intento di fornire uno strumento aggiuntivo in grado di aiutare le scelte terapeutiche in questo sottogruppo di pazienti. I pazienti vengono categorizzati in base al punteggio NIHSS all'arrivo in PS: ictus lieve (NIHSS < 6) vs ictus non-lieve (NIHSS > 5). Differenze clinico/radiologiche e di outcome funzionale a 90 giorni vengono valutate nei due gruppi attraverso modelli di analisi univariata. Le analisi vengono poi aggiustate in base alla terapia ricevuta. L'outcome dei pazienti con ictus lieve che hanno ricevuto una terapia di rivascolarizzazione (rtPA da solo, rtPA + trombectomia meccanica oppure solo trombectomia meccanica). E' stato confrontato con l'outcome di pazienti con clinica analoga che non hanno ricevuto un trattamento in acuto. Attraverso modelli di regressione logistica (univariata e multivariata) è stata valutata e quantificata l'associazione tra l'intervento terapeutico in acuto e l'outcome funzionale a 90 giorni dall'ictus. Nei pazienti con NIHSS < 6 , attraverso modelli di regressione logistica (univariata e multivariata), è stata valutata e quantificata l'associazione tra l'intervento terapeutico in acuto e la presenza di complicanze emorragiche intracraniche.

Il primo lavoro dal titolo: Intravenous thrombolysis + endovascular thrombectomy versus thrombolysis alone in large vessel occlusion mild stroke: a propensity score matched analysis "che illustra i risultati di questo studio, è recentemente stato accettato dalla rivista "European Journal of Neurology" ed è in corso di pubblicazione.

2) Neuroimaging avanzato nella gestione acuta dello stroke ischemico: dalla finestra temporale alla finestra di parenchima

Classicamente il trattamento con trombolisi endovenosa in pazienti con ictus ischemico acuto può essere somministrato entro le 4.5 ore dall'esordio dei sintomi, mentre il trattamento di trombectomia meccanica entro le 6 ore. Maggiore è il tempo trascorso dall'esordio dei sintomi e 1) maggiore è il

tessuto andato incontro a ischemia non reversibile (core ischemico) e 2) minore è il tessuto ipossico salvabile (penombra ischemica). Le tecniche avanzate di neuroimaging, come gli studi di perfusione, sono state recentemente impiegate in acuto per individuare pazienti con tessuto cerebrale salvabile anche oltre le classiche finestre temporali. Se vengono soddisfatti alcuni stringenti criteri neuroradiologici legati a parametri derivanti da studi di perfusione, si può intervenire con la trombolisi endovenosa fino alle 9 ore dall'esordio dei sintomi e fino a 24 ore nel caso della trombectomia meccanica.

L'obiettivo dello studio, che è proseguito anche nel 2022, è quello di valutare l'applicazione della TC-perfusione nell'individuazione di parametri neuroradiologici in grado di predire l'outcome di pazienti con stroke ischemico acuto dopo procedura di rivascolarizzazione (trombolisi endovena e/o trombectomia meccanica) entro classica la finestra terapeutica di tempo.

E' in corso l'arruolamento di pazienti maggiorenni con diagnosi di ictus ischemico acuto che trattati entro le 4.5 ore (rtPA) ed entro le 6 ore (trombectomia meccanica) ed eseguito studio CT-perfusione in acuto.

Vengono raccolti dati clinici e neuroradiologici, con particolare attenzione ai fattori di rischio cardio-cerebrovascolari e a dati provenienti da studi avanzati di neuroimaging (es. TAC-Perfusione).

I pazienti vengono quindi categorizzati principalmente in base alla diagnosi alla dimissione (ictus ischemico o ictus emorragico), alla terapia anti-trombotica in atto al momento dell'evento indice, al trattamento ricevuto in fase acuta (trombolisi endovenosa, trombectomia meccanica, entrambi i trattamenti, nessun trattamento), evidenze derivanti dagli studi di neuroimaging avanzato in fase acuta, terapia di prevenzione secondaria indicata alla chiusura del ricovero e condizione clinico/funzionale a 3-6 mesi dall'evento indice.

Dopo aver categorizzato i pazienti in base all'outcome a 90 giorni verrà valutata la differenza di parametri clinici e radiologici nei due gruppi. Particolare attenzione verrà data alla valutazione di differenze significative nei parametri di CT-perfusione.

Successivamente i pazienti trattati in acuto verranno categorizzati in base alla presenza o assenza di criteri di finestra di parenchima sfavorevole. L'outcome a 90 giorni verrà valutato nei due gruppi alla ricerca di eventuali differenze statisticamente significative. In altre parole si valuterà l'associazione tra l'outcome a 90 giorni dall'evento e la presenza di criteri di finestra parenchimale sfavorevole.

Tramite la costruzione di una curva ROC, verrà valutata la capacità predittiva dei valori derivanti dallo studio CT-perfusione per l'outcome a 90 giorni. In particolare si valuterà se la presenza di criteri neuro-radiologici di finestra parenchimale sfavorevole sono in grado di predire l'outcome funzionale a 90 giorni, indipendentemente dalla finestra temporale.

3) Policlinico Ischemic Stroke Thrombi Analysis Registry (POLISTAR): Registro sull'analisi dei trombi in pazienti con ictus ischemico

La definizione dell'eziologia in pazienti ictus ischemico acuto (IIA) è fondamentale per selezionare strategie di prevenzione secondaria adeguate. Sebbene l'IIA sia causato nella maggior parte dei casi da aterosclerosi, sorgenti cardioemboliche o sofferenza dei piccoli vasi cerebrali, fino al 30% degli IIA hanno eziologia sconosciuta all'atto della dimissione dopo un adeguato percorso diagnostico. Nell'ultimo decennio, grazie ai risultati di svariati trials clinici sull'uso della trombectomia meccanica, cioè un approccio interventistico basato sull'uso di un catetere transcutaneo per la rimozione di trombi occludenti un grande vaso, e dell'endoarterectomia carotidea, sono oggi a

disposizione i trombi recuperati grazie a tali procedure per analisi anatomopatologiche, biochimiche e molecolari, potenzialmente utili per la definizione diagnostica dell'IIA.

I Registri consentono la raccolta di dati nell'ambito della pratica clinica e rappresentano un valido strumento per la ricerca clinica. Costituiscono, quindi, una base ideale per sviluppare studi volti a rispondere a molteplici ipotesi di ricerca, partendo da dati di real-life. In questo senso, è importante notare come i pazienti affetti da disturbi cerebrovascolari come l'IIA rappresentino un'ampia popolazione caratterizzata da complessità clinica, biologica e sociale. Al fine di studiare più accuratamente tale complessità e fornire pragmatiche risposte ai bisogni della popolazione, è necessario standardizzare e raccogliere informazioni atte a meglio definire clinicamente tali con insorgenza acuta e conseguenze e potenziale disabilità cronica e capirne l'eziologia e i meccanismi biologici sottostanti, così da scoprire nuovi approcci diagnostici e target terapeutici.

Parallelamente al registro, si sviluppano le biobanche per la raccolta di dati biologici, unità di servizio deputate alla raccolta organizzata e alla conservazione di uno o più tipi diversi di tessuti biologici (come materiale biologico da procedure interventistiche, sangue, tessuto, cellule, DNA) da destinare alla ricerca, per analisi da condurre in tempi successivi alla loro raccolta, con la finalità di testare singole o multiple ipotesi.

L'obiettivo di tale studio è principalmente la raccolta, la conservazione ed l'organizzazione di materiale biologico (siero, plasma, cellule da sangue periferico e/o paxgene tubes per RNA, trombi da trombectomia meccanica e placche aterosclerotiche da endoarteriectomia carotidea) raccolto durante il PDTA di pazienti adulti con IIA al fine di generare una biobanca di ricerca.

Nel 2023 è partito l'inserimento prospettico dei pazienti con stroke ischemico trattati in fase acuta e ricoverati presso la Stroke Unit.

4) CCM

E' proseguito anche nel 2023 l'interesse per un altro grande capitolo trattato da alcuni membri del team Stroke, quello per l'angiomasia multipla cerebrale quale causa rara di emorragia intraparenchimale.

La Fondazione IRCCS Cà Granda è centro di riferimento per la diagnosi e la cura della patologia. Nel nostro centro il paziente viene inquadrato dal punto di vista clinico, radiologico e genetico molecolare; vengono infatti studiati i tre geni le cui mutazioni sono causa della formazione di angiomi multipli: CCM1, CCM2 e CCM3.

Il Policlinico è Centro Coordinatore dello studio prospettico multicentrico italiano Treat CCM, finanziato da AIFA, volto a verificare i potenziali effetti benefici del trattamento con Propranololo in questa patologia. Lo studio è tuttora in corso.

5) Neuday 2023

Anche nel 2023 la nostra Stroke Unit ha partecipato alla raccolta dati riguardanti Urgenze Neurologiche nell'ambito del NEUDAY, iniziativa portata avanti dalla Società Italiana di Neurologia d'Urgenza con la quale abbiamo collaborato anche in questa edizione.

Le finalità del NEUDay 2022 sono state:

- l'acquisizione dei dati dalla maggior parte dei PS/DEA operanti nel territorio nazionale che vedano la presenza del neurologo afferente alla UO aperta all'urgenza
- la pubblicizzazione delle stesse informazioni a livello degli organismi locali, regionali e nazionali di gestione della assistenza in emergenza-urgenza
- la possibile divulgazione dei dati così ottenuti negli ambiti propri delle varie specialità afferenti alle urgenze

- la diffusione dei dati raccolti in ambito scientifico, con la stesura di articoli divulgativi dedicati
L'edizione di quest'anno ha presentato alcune importanti novità rispetto alle passate edizioni e nello specifico:

- La rivisitazione della scheda paziente PS/DEA
- L'inserimento di una scheda paziente per le visite neurologiche urgenti effettuate presso i reparti di degenza
- L'inserimento di una survey sulle caratteristiche organizzative degli ospedali.

Bonato S, Schwarz G, Lanfranconi S, Matusevicius M, Ghione I, Valcamonica G, Tsivgoulis G, Paiva Nunes A, Mancuso M, Zini A, Candelaresi P, Rand VM, Comi GP, Mazyra MV, Ahmed N. *Intravenous thrombolysis + endovascular thrombectomy versus thrombolysis alone in large vessel occlusion mild stroke: a propensity score matched analysis.*

Eur J Neurol. 2023 May;30(5):1312-1319. doi:

10.1111/ene.15722. Epub 2023 Feb 24. PMID: 36746650.

Costamagna G, Bonato S, Corti S, Meneri M.

Advancing Stroke Research on Cerebral Thrombi with Omic Technologies.

Int J Mol Sci. 2023 Feb 8;24(4):3419.

doi: 10.3390/ijms24043419. PMID: 36834829; PMCID: PMC9961481.

SSD 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

DIRETTORE:

Prof. Giacomo Comi

RESPONSABILE:

Prof.ssa Daniela Galimberti

PROFESSORE FUORI RUOLO A CONTRATTO TITOLO GRATUITO

Prof. Elio Scarpini

RTDA:

Dott.ssa Chiara Fenoglio

MEDICI:

Dott.ssa Milena De Riz

Dott.ssa Anna Pietroboni

Dott. Andrea Arighi

Dott.ssa Tiziana Carandini

MEDICI SPECIALIZZANDI:

Dott.ssa Manuela Pintus

Dott. Luca Sacchi

BIOLOGI:

Dott.ssa Maria Serpente

Dott.ssa Caterina Visconte

Dott.ssa Marina Arcaro

Dott.ssa Marianna D'Anca

Dott.ssa Maria Teresa Golia

Dott.ssa Francesca Buccellato

Dott.ssa Chiara Bianchessi

PSICOLOGI:

Dott. Roberto Vimercati

Dr.ssa Emanuela Rotondo

Dott.ssa Vittoria Borracci

Dott.ssa Marta Frascotti

Dott.ssa Graziana Florio

Dott. Giorgio Bocca

SEGRETARI:

Sig.ra Daniela Da Lisca

Sig. Marco Milianti

Sig.ra Ioana Miliescu

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 2023 sono giunti all'ambulatorio per le Malattie Demielinizzanti circa 110 nuovi pazienti.

Il numero totale di visite nel corso del 2023 è stato di più di 700 in ambulatori dedicati alla Sclerosi Multipla, attivi tutti i giorni sia al mattino che al pomeriggio, in parte in telemedicina per l'emergenza sanitaria.

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 600 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 circa 250 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 1200 visite, in ambulatori attivi dal lunedì al venerdì, sia la mattina che il pomeriggio in parte in telemedicina per l'emergenza sanitaria.

Sono stati effettuati 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 oltre 500 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: 120
- dosaggio Amiloide, Tau totale e fosforilata nel liquor per diagnosi Alzheimer: 180
- progranulina plasmatica: 60
- ricerca di espansione esanucleotidica di *C9ORF72* mediante analisi di frammenti: 100
- analisi NGS esoma clinico: 60

2. SPERIMENTAZIONI CLINICHE (multicentriche, randomizzate)

A randomised double-blind placebo-controlled clinical trial investigating the effect and safety of oral semaglutide in subjects with early Alzheimer's disease (EVOKE), Novo Nordisk, prot. NN6535-4730

A randomised double-blind placebo-controlled clinical trial investigating the effect and safety of oral semaglutide in subjects with early Alzheimer's disease (EVOKE plus), Novo Nordisk, prot NN6535-4725

A Placebo-Controlled, Double-Blind, Parallel-Group, 18-Month Study With an Open-Label Extension Phase to Confirm Safety and Efficacy of BAN2401 in Subjects With Early Alzheimer's Disease, Eisai, prot BAN 2401-G000-301

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, Eisai, prot BAN 2401-G000-301

A phase 3, Multicenter, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled study to evaluate the efficacy and safety of AL001 in individual at risk for of with FTD due to heterozygous mutations in the progranulin gene ALECTOR, prot AL001-3

A phase 2 randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter study to evaluate the efficacy and safety of AL002 in participants with early Alzheimer's disease ALECTOR, prot AL002-2

An extension study of ABBVIE-8E12 in early AD ABBVIE M15-570

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 3, multisite, open-label extension trial of oral RPC1063 in relapsing multiple sclerosis RECEPTOS RPC01-3001

A phase 3, randomized, double-blind, efficacy and safety study comparing SAR442168 to placebo in participants with nonrelapsing secondary progressive multiple sclerosis (HERCULES) SANOFI, prot EFC16645

A phase 3, randomized, double-blind efficacy and safety study comparing SAR442168 to teriflunomide (AUBAGIO) in participants with relapsing forms of multiple sclerosis (GEMINI1) SANOFI, prot EFC16033

An observational, real life study to describe the effect of Lemtrada on fatigue, quality of life and other patient and caregiver reported outcomes in patients with RRSM alem107661-REALITY

3. ATTIVITÀ DI RICERCA DI BASE

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

1) circa 8000 campioni di DNA. Le patologie più rappresentate sono:

- 780 pazienti con diagnosi di Malattia di Alzheimer
- 700 con altri tipi di demenza (Degenerazione Lobare Frontotemporale, demenza a corpi di Lewy, demenza vascolare, paralisi sopranucleare progressiva, degenerazione corticobasale)
- 950 con diagnosi di Sclerosi Multipla

2) circa 1250 campioni di liquido cerebrospinale, siero e plasma. Tra questi:

- 540 pazienti con Sclerosi Multipla
- 780 con patologie neurodegenerative (prevalentemente malattia di Alzheimer)

3) circa 600 cDNA ricavati da RNA estratto da cellule del sangue

Nel corso del 2023 l'attività del gruppo si è articolata sulle seguenti tematiche:

Caratterizzazione, quantificazione e studio del contenuto delle vescicole extracellulari di origine neuronale e microgliale dal plasma di pazienti con fragilità e malattia di Alzheimer e studio dei microRNA in esse contenuti

Questo studio si colloca nell'ambito di una ricerca finalizzata volta a studiare la fragilità come fattore in grado di influenzare e accelerare i processi neurodegenerativi che conducono a demenza. Notoriamente l'infiammazione cronica e l'attivazione del sistema immunitario sono fattori implicati nella fragilità (definita come una sindrome dell'anziano associata a progressivo declino fisico e ad un significativo aumento del rischio di cadute, di disabilità, di ospedalizzazione e di morte) e nello sviluppo del declino cognitivo negli anziani. Tuttavia, non vi sono molecole di tipo infiammatorio o RNA non codificanti (ncRNA) che siano state dimostrati come biomarcatori diagnostici o prognostici utilizzati nell'ambito clinico per la fragilità e la demenza. La nostra ipotesi di lavoro è che il contenuto degli esosomi di origine neuronale (NDE: Neural Derived Exosomes) e microgliale (microglial Derived Exosomes, MDEs) potrebbero essere una fonte promettente di biomarcatori per la fragilità e la demenza in quanto queste vescicole potrebbero riflettere le modificazioni patologiche che avvengono nel cervello. Anche la loro concentrazione e dimensione potrebbe essere caratteristica dello stato fisiologico del soggetto o essere un fattore predisponente a fragilità e declino cognitivo. A questo scopo nell'ultimo anno è stato ottimizzato un protocollo di estrazione ed isolamento delle vescicole microgliali plasmatiche ed è stato applicato allo studio per la determinazione della loro concentrazione, unitamente a quelle di derivazione neuronale, nei soggetti cognitivamente sani e in quelli fragili e non fragili affetti da decadimento cognitivo di grado lieve (MCI) o demenza. La quantificazione è stata eseguita in parallelo con due tecnologie distinte il nanoparticle tracking analysis (NTA), che calcola la concentrazione delle vescicole mediante analisi del moto browniano delle particelle e analisi dimensionale al qNANO (Tunable Resistive Pulse Sensing).

Dai risultati analizzati con entrambe le metodiche emerge una analoga distribuzione dimensionale delle vescicole totali e di specifica derivazione cellulare. Riguardo invece la concentrazione dai primi dati analizzati si evince una maggiore concentrazione nelle vescicole di derivazione microgliale nei soggetti con MCI e fragilità rispetto ai controlli. Questo avvalora l'ipotesi di un possibile ruolo delle vescicole di derivazione microgliale nei processi infiammatori o comunque patogenetici che occorrono nelle fasi iniziali del decadimento cognitivo. Successivamente abbiamo determinato il profilo di espressione dei microRNA nelle vescicole totali dei pazienti ed abbiamo evidenziato un profilo specifico di espressione di miR-16-5p, miR-25-3p, miR-92a-3p, e miR-451a nei soggetti affetti da malattia di Alzheimer nella forma prodromica. Questi sono i dati preliminari di un progetto tuttora incorso e fin qui il lavoro svolto ha permesso di isolare nel plasma e caratterizzare mediante differenti metodiche le vescicole extracellulari di derivazione microgliale oltre a quelle neuronali per le quali il metodo era già stato ottimizzato. E' stato stabilito che tali vescicole hanno caratteristiche di marcatori, morfologia e dimensioni equiparabili a quelle esosomali e che vi sia una tendenza ad un aumento della loro concentrazione nella condizione di MCI associato a fragilità ed una firma molecolare specifica costituita da un set di miRNA disregolato nei soggetti affetti da forma prodromica di malattia di Alzheimer.

Profilo infiammatorio nel siero dei soggetti affetti da FTD e portatori di mutazione in *GRN* e *MAPT*.

Questo studio tuttora in corso ha coinvolto i sieri dei soggetti affetti da FTD e portatori di mutazioni genetiche collezionati negli anni nell'ambito del consorzio GENFI. Questa collaborazione ha permesso

così di ottenere i sieri di 443 soggetti portatori di mutazioni in *GRN*, *MAPT* e *C9ORF72* sia asintomatici che sintomatici e soggetti sani non portatori di mutazioni.

Attraverso l'utilizzo della tecnologia MSD su piattaforma Meso –quick plex SQ 120 che lavora in elettrochemiluminescenza sono state analizzate le seguenti molecole coinvolte nei processi infiammatori: CRP, Eotaxin, Eotaxin-3, FGF (basic), ICAM-1, IFN- γ , IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12/IL-23p40, IL-13, IL-15, IL-16, IL-17A, IP-10, MCP-1, MCP-4, MDC, MIP-1 α , MIP-1 β , PlGF, SAA, TARC, Tie-2, TNF- α , TNF- β , VCAM-1, VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, VEGFR-1/Flt-1. Della coorte disponibile sono stati ad oggi analizzati un totale di 17 soggetti sintomatici portatori di mutazioni in *MAPT* e 14 asintomatici, 16 soggetti portatori di mutazione in *GRN* sintomatici e 12 asintomatici, 17 soggetti portatori di espansione in *C9ORF72* sintomatici e 14 portatori asintomatici, e 51 soggetti sani non portatori. Da una analisi preliminare emerge una differente regolazione dei livelli di alcuni parametri infiammatori nei soggetti portatori delle diverse mutazioni sia sintomatici che asintomatici rispetto ai controlli non portatori, suggerendo differenti meccanismi patogenetici sottesi dai diversi geni mutati.

Profilo di espressione dei miRNA in soggetti affetti da FTD e portatori di mutazione in *C9ORF72*, *GRN* e *MAPT*.

In questo studio ancora in corso è stato valutato il livello di espressione di miRNA estratti da cellule del sangue periferico di soggetti affetti da FTD e portatori di mutazioni genetiche reclutati negli anni nell'ambito del consorzio GENFI. Questa collaborazione ha permesso di ottenere campioni di 157 soggetti portatori di mutazioni in *GRN*, *MAPT* e *C9ORF72* sia asintomatici che sintomatici e soggetti sani non portatori di mutazioni. Per lo studio è stata utilizzata la tecnologia OpenArray, che permette, mediante Real time PCR, di analizzare contemporaneamente 754 miRNA. Un'analisi preliminare è stata condotta su 30 portatori sintomatici (10 portatori dell'espansione in *C9ORF72*, 10 mutati in *GRN*, 10 in *MAPT*) e 10 non portatori. Diversi miRNA sono risultati deregolati in maniera specifica per il gruppo genetico rispetto ai non portatori. In particolare, per quanto riguarda il gruppo *C9ORF72*, hsa-miR-223# e hsa-miR-20b sono risultati maggiormente espressi nei pazienti rispetto ai controlli ($p < 0.04$). Nel gruppo *GRN* si è osservata una maggiore espressione di hsa-miR-28-3p, hsa-miR-342-3p, hsa-miR-365, hsa-miR-576-5p e hsa-miR-642, mentre l'espressione di hsa-miR-590-5p risulta ridotta ($p < 0.04$). Infine, riguardo il gruppo *MAPT*, nove miRNA sono risultati deregolati rispetto ai controlli: hsa-miR-146a, hsa-miR-192, hsa-miR-25, hsa-miR-28, hsa-miR-28-3p, hsa-miR-30c, hsa-miR-576-3p mostravano una maggiore espressione, mentre hsa-miR-339-5p e hsa-miR-532-3p erano più espressi nei controlli. Per ciascun gruppo genetico, i livelli di espressione dei miRNA identificati, analizzati mediante curve ROC, sono in grado di predire pazienti e controlli con elevata sensibilità ($>80\%$) e specificità ($>78\%$). È in corso la validazione su ulteriori soggetti sintomatici e sui portatori non sintomatici.

Ricerca di biomarcatori per lo studio del sistema glinfatico

Valutazione dei livelli liquorali della proteina Acquaporina4 (AQP4) nei pazienti con malattie neurodegenerative e correlazione con i biomarcatori di neurodegenerazione; valutazione degli spazi liquorali perivascolari dilatati con tecniche di RM e correlazione con i livelli di AQP4 ed i biomarcatori liquorali di neurodegenerazione; studio della diffusività ventricolare del tracciante per amiloide mediante PET e correlazione con i livelli di AQP4 ed i biomarcatori liquorali di neurodegenerazione

Studio osservazionale open label di terapie immunomodulanti per la Sclerosi Multipla (3TR-MS)

Lo studio internazionale, in aperto, osservazionale, multicentrico, farmacologico, non interventistico, esplorativo e di tipo prospettico è inserito nell'ambito del programma HORIZON2020, CALL “H2020-JTI-IMI2-2018-14-two-stage (2019-2026). Il nostro Centro è stato nominato coordinatore internazionale; parteciperanno 10 altri Centri e si prevede di arruolare un totale di 350 pazienti. Tale studio si propone di identificare i biomarcatori in grado di predire la risposta alle terapie modificanti l'andamento della malattia, le cosiddette DMTs, per pazienti con diagnosi di SM e di valutare precocemente i cambiamenti patofisiologici associati, al fine di identificare marcatori biologici di non

risposta che permettano di cambiare in futuro l'approccio terapeutico evitando ricadute di malattia e accumulo di disabilità. Questo tipo di approccio apre la strada alla terapia personalizzata.

Lo studio prevede l'analisi di dati e campioni (sangue, feci, urina, saliva e liquido cefalorachidiano solo per pazienti di nuova diagnosi come da pratica clinica) di 30 pazienti arruolati presso il nostro centro affetti da SM nella forma recidivante-remittente (RR) mai trattati in passato con farmaci immunomodulatori o di nuova diagnosi (ad oggi sono stati arruolati 8 pazienti). Lo studio ha anche un obiettivo secondario, quello di valutare l'impatto della fatica attraverso la somministrazione di differenti questionari auto valutativi di qualità della vita (es: SF-36, FACIT-F).

Il 3TR-MS fa parte di un progetto di più ampio respiro che coinvolge oltre alla sclerosi multipla anche altre 5 malattie a base immunologica, allergica e infiammatoria quali il Lupus Eritematoso Sistemico, l'Asma, Malattie infiammatorie intestinali (Morbo di Chron e Colite Ulcerosa), la broncopneumopatia cronica ostruttiva e l'Artrite Reumatoide. Infatti la principale ipotesi del progetto 3TR è che i dati ottenuti dallo studio analizzati con approcci molecolari di natura "multiomica" (es: trascrittomica, epigenomica) in maniera trasversale nelle differenti patologie potrebbero identificare dei pathway biologici comuni che meglio possono predire la responsività o meno alla terapia rispetto alle differenze cliniche e patologiche proprie di ogni singola malattia.

Studio della motilità oculare, del sistema vestibolare e delle caratteristiche neuropsicologiche in soggetti affetti da atrofia corticale posteriore

Studio delle differenze cliniche, neuropsicologiche e di neuroimaging tra pazienti con demenza frontotemporale variante temporale destra e pazienti con malattia di Alzheimer con atrofia temporale destra.

Abbiamo riscontrato che nei soggetti con malattia di Alzheimer erano più frequenti disturbi di orientamento e disturbi esecutivi all'esordio mentre nei frontotemporalali al follow up maggiore disagio sociale.

Studio DIPPA (Diagnostic and Prognostic Precision medicine for behavioural variant Frontotemporal Dementia) finanziato da JPND (EU Jointed Program – Neurodegenerative Disease Research).

Lo studio è finalizzato all'identificazione di biomarcatori diagnostici e prognostici per la Demenza Frontotemporale (FTD): in particolare si sta valutando il contenuto di vescicole extracellulari di origine neuronale derivanti da pazienti affetti dalla variante comportamentale della demenza frontotemporale. Tale contenuto sarà confrontato con quello di vescicole estratte da pazienti psichiatrici ad esordio tardivo (PPD), che talvolta presentano sintomi sovrapponibili, e da controlli non dementi. Nell'ultimo anno si è conclusa la fase esplorativa dello studio condotto su 40 soggetti affetti da demenza frontotemporale di tipo comportamentale, 20 soggetti affetti da disturbo psichiatrico ad esordio tardivo e 20 controlli sani. L'RNA estratto dalle vescicole plasmatiche di derivazione neuronale è stato analizzato con lo scopo di determinare un profilo caratteristico di miRNA.

L'analisi ha permesso così di determinare 7 miRNA maggiormente disregolati, in particolare miR-223-3p, miR-126-3p e miR-597-5p sono significativamente aumentati nei pazienti FTD rispetto ai PPD mentre miR-331-3p, miR-106b-3p e miR-126-3p sono significativamente aumentati nei PPD rispetto ai pazienti FTD. Attualmente è in corso la fase di validazione di tali risultati in una coorte più ampia composta dai campioni del consorzio DIPPA.

Utilizzo di tecniche quantitative di MRI nei pazienti con sclerosi multipla

In particolare verranno analizzate le sequenze di DWI-MRI e trattografia, per studiare il danno microstrutturale nei tratti di sostanza bianca delle aree cerebrali prefrontali e per valutare correlazioni con le performance cognitive misurate da batterie di test neuropsicologici. Inoltre verrà studiato il danno microstrutturale nei tratti monoaminergici di sostanza bianca delle aree cerebrali prefrontali e per valutare correlazioni con le scale di fatigue

Ricerca Finalizzata Giovani Ricercatori 2019 Ministero della Salute: “DISsecting Behavioral variant frontotemporal dementia AND bipolar disorder: an integrated epigenetic-neuroimaging approach (DISBAND)”. GR-2019-12369100.

Nell'ambito del Progetto GR-2019- 12369100 sono state isolate vescicole neuronali dal plasma di 20 pazienti affetti da demenza frontotemporale di tipo comportamentale, 20 soggetti portatori di espansione patogenetica nel gene C9orf72, 40 soggetti con disturbo bipolare (20 a esordio precoce, 20 a esordio tardivo; in collaborazione con la SC Psichiatria della Fondazione IRCCS C'a Granda Ospedale Maggiore Policlinico) e 25 controlli sani. Abbiamo analizzato il contenuto di tali vescicole in termini di RNA non codificanti al fine di identificare dei pattern specifici di espressione genica. Sono stati individuati 7 miRNA la cui espressione differisce tra i gruppi oggetto di studio e in particolare il miR-323-3p e il miR-20a mantengono tale significatività anche dopo correzione di Bonferroni.

PET amiloide e danno della sostanza bianca

Utilizzo dei traccianti amiloide per l'identificazione precoce del danno della sostanza bianca in pazienti affetti da malattia di Alzheimer e da demenze non AD e correlazione con i livelli liquorali di proteina beta amiloide

Quantitative susceptibility mapping (QSM) della sostanza bianca apparentemente normale (NAWM) nella sclerosi multipla come possibile marcatore precoce di progressione silente di malattia

Correlazione tra il danno della sostanza bianca valutato con tecniche di imaging innovative e progressione clinica misurata con EDSS e MSSS (e i livelli sierici di Neurofilamenti e GFAP e i livelli liquorali di proteina amiloide)

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

Tra i primi vi sono:

- Prof. A. 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
- Proff. Alessandro Padovani e Barbara Borroni, Università di Brescia
- Dott.ssa Claudia Verderio CNR institute of Neuroscience, Università Milano-Bicocca
- Prof. Marco Bozzali, Università di Torino
- Dott.ssa Carmen Giordano, Politecnico di Milano

Tra i centri esteri:

- Dr. Robert P. Lisak, Dip. di Neurologia, Detroit (USA)
- Prof. Philip Scheltens, Prof. Yolande Pijnenburg, Dept. of Neurology, VU University Medical Center, Amsterdam, The Netherlands
- Prof. Janine Diehl, University of Munich, Germany
- Prof. Glenda Halliday, University of Sydney, Australia
- Prof. Simon Ducharme, McGill University, Vancouver, Canada
- Dr. Anne Cross, University of Saint Louis, USA
- Prof. Jean Charles Lambert, Lille, France
- Dr. Jonathan Rohrer, UCL, London, UK
- Prof. An Goris, Leuven, Belgium
- Dr. Marta Alarcon, Genyo, Granada, 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 2023

Whiteside DJ, Malpetti M, Jones PS, Ghosh BCP, Coyle-Gilchrist I, van Swieten JC, Seelaar H, Jiskoot L, Borroni B, Sanchez-Valle R, Moreno F, Laforce R, Graff C, Synofzik M, Galimberti D, Masellis M, Tartaglia MC, Finger E, Vandenberghe R, de Mendonça A, Tagliavini F, Butler CR, Santana I, Ber IL, Gerhard A, Ducharme S, Levin J, Danek A, Otto M, Sorbi S, Pasquier F, Bouzigues A, Russell LL, Rohrer JD, Rowe JB, Rittman T; GENFI consortium.

Temporal dynamics predict symptom onset and cognitive decline in familial frontotemporal dementia.

Alzheimers Dement. 2023 ;19(5):1947-62.doi: 10.1002/alz.12824. IF=14

Samra K, MacDougall AM, Peakman G, Bouzigues A, Bocchetta M, Cash DM, Greaves CV, Convery RS, van Swieten JC, Jiskoot L, Seelaar H, Moreno F, Sanchez-Valle R, Laforce R, Graff C, Masellis M, Tartaglia C, Rowe JB, Borroni B, Finger E, Synofzik M, Galimberti D, Vandenberghe R, de Mendonça A, Butler CR, Gerhard A, Ducharme S, Le Ber I, Tiraboschi P, Santana I, Pasquier F, Levin J, Otto M, Sorbi S, Rohrer JD, Russell LL;

Genetic FTD Initiative (GENFI). Motor symptoms in genetic frontotemporal dementia: developing a new module for clinical rating scales.

J Neurol. 2023;270(3):1466-1477. doi: 10.1007/s00415-022-11442-y. IF=6

Pérez-Millan A, Borrego-Écija S, van Swieten JC, Jiskoot L, Moreno F, Laforce R, Graff C, Masellis M, Tartaglia MC, Rowe JB, Borroni B, Finger E, Synofzik M, Galimberti D, Vandenberghe R, de Mendonça A, Butler CR, Gerhard A, Ducharme S, Le Ber I, Santana I, Pasquier F, Levin J, Otto M, Sorbi S, Tiraboschi P, Seelaar H, Langheinrich T, Rohrer JD, Sala-Llloch R, Sánchez-Valle R; Genetic FTD Initiative, GENFI.

Loss of brainstem white matter predicts onset and motor neuron symptoms in C9orf72 expansion carriers: a GENFI study.

J Neurol. 2023;270(3):1573-1586. doi: 10.1007/s00415-022-11435-x. IF=6

Finger E, Malik R, Bocchetta M, Coleman K, Graff C, Borroni B, Masellis M, Laforce R, Greaves CV, Russell LL, Convery RS, Bouzigues A, Cash DM, Otto M, Synofzik M, Rowe JB, Galimberti D, Tiraboschi P, Bartha R, Shoesmith C, Tartaglia MC, van Swieten JC, Seelaar H, Jiskoo LC, Sorbi S, Butler CR, Gerhard A, Sanchez-Valle R, de Mendonça A, Moreno F, Vandenberghe R, Le Ber I, Levin J, Pasquier F, Santana I, Rohrer JD, Ducharme S;

Genetic FTD Initiative GENFI. Neurodevelopmental effects of genetic frontotemporal dementia in young adult mutation carriers.

Brain 2023;146(5):2120-31. doi: 10.1093/brain/awac446 IF=14,5

Samra K, MacDougall AM, Bouzigues A, Bocchetta M, Cash DM, Greaves CV, Convery RS, van Swieten JC, Seelaar H, Jiskoot L, Moreno F, Sanchez-Valle R, Laforce R, Graff C, Masellis M, Tartaglia MC, Rowe JB, Borroni B, Finger E, Synofzik M, Galimberti D, Vandenberghe R, de Mendonça A, Butler CR, Gerhard A, Ducharme S, Le Ber I, Tiraboschi P, Santana I, Pasquier F, Levin J, Otto M, Sorbi S, Rohrer JD, Russell LL;

Genetic FTD Initiative (GENFI). Language impairment in the genetic forms of behavioural variant frontotemporal dementia.

J Neurol. 2023;270(4):1976-1988. doi: 10.1007/s00415-022-11512-1. IF=6

Pietroboni AM, Colombi A, Contarino VE, Russo FML, Conte G, Morabito A, Siggillino S, Carandini T, Fenoglio C, Arighi A, De Riz MA, Arcaro M, Sacchi L, Fumagalli GG, Bianchi AM, Triulzi F, Scarpini E, Galimberti D.

Quantitative susceptibility mapping of the normal-appearing white matter as a potential new marker of disability progression in multiple sclerosis.

Eur Radiol. 2023 33:8;5368-77. IF=5,9

Samra K, Macdougall A, Peakman G, Bouzigues A, Bocchetta M, Cash DM, Greaves CV, Convery RS, van Swieten JC, Jiskoot LC, Seelaar H, Moreno F, Sánchez-Valle R, Laforce R, Graff C, Masellis M, Tartaglia MC, Rowe JB, Borroni B, Finger E, Synofzik M, Galimberti D, Vandenberghe R, de Mendonça A, Butler CR, Gerhard A, Ducharme S, Le Ber I, Tiraboschi P, Santana I, Pasquier F, Levin J, Otto M, Sorbi S, Rohrer JD, Russell LL;

Genetic FTD Initiative (GENFI); Genetic FTD Initiative (GENFI). Neuropsychiatric symptoms in genetic frontotemporal dementia: developing a new module for Clinical Rating Scales.

J Neurol Neurosurg Psychiatry 2023;jnnp-2022-330152. doi: 10.1136/jnnp-2022-330152. IF=11

Chiariello A, Valente S, Pasquinelli G, Baracca A, Sgarbi G, Solaini G, Medici V, Fantini V, Poloni TE, Tognocchi M, Arcaro M, Galimberti D, Franceschi C, Capri M, Salvioli S, Conte M. The expression pattern of GDF15 in human brain changes during aging and in Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci.* 2023;14:1058665. doi: 10.3389/fnagi.2022.1058665. eCollection 2022. IF=4,5

Visconte C, Golia MT, Fenoglio C, Serpente M, Gabrielli M, Arcaro M, Sorrentino F, Busnelli M, Arighi A, Fumagalli G, Rotondo E, Rossi P, Arosio B, Scarpini E, Verderio C, Galimberti D.

Plasma microglial-derived extracellular vesicles are increased in frail patients with Mild Cognitive Impairment and exert a neurotoxic effect.

Geroscience. 2023 45(3):1557-71. doi: 10.1007/s11357-023-00746-0. IF=5,6

Jiskoot LC, Russell LL, Peakman G, Convery RS, Greaves CV, Bocchetta M, Poos JM, Seelaar H, Giannini LAA, van Swieten JC, van Minkelen R, Pijnenburg YAL, Rowe JB, Borroni B, Galimberti D, Masellis M, Tartaglia C, Finger E, Butler CR, Graff C, Laforce R Jr, Sanchez-Valle R, de Mendonça A, Moreno F, Synofzik M, Vandenberghe R, Ducharme S, le Ber I, Levin J, Otto M, Pasquier F, Santana I, Cash DM, Thomas D, Rohrer JD;

Genetic Frontotemporal dementia Initiative (GENFI). The Benson Complex Figure Test detects deficits in visuoconstruction and visual memory in symptomatic familial frontotemporal dementia: A GENFI study.

J Neurol Sci. 2023;446:120590. doi: 10.1016/j.jns.2023.120590. IF=4,4

Bussy A, Levy JP, Best T, Patel R, Cupo L, Van Langenhove T, Nielsen JE, Pijnenburg Y, Waldö ML, Remes AM, Schroeter ML, Santana I, Pasquier F, Otto M, Danek A, Levin J, Le Ber I, Vandenberghe R, Synofzik M, Moreno F, de Mendonça A, Sanchez-Valle R, Laforce R, Langheinrich T, Gerhard A, Graff C, Butler CR, Sorbi S, Jiskoot L, Seelaar H, van Swieten JC, Finger E, Tartaglia MC, Masellis M, Tiraboschi P, Galimberti D, Borroni B, Rowe JB, Bocchetta M, Rohrer JD, Devenyi GA, Chakravarty MM, Ducharme S;

GENetic Frontotemporal dementia Initiative (GENFI). Cerebellar and subcortical atrophy contribute to psychiatric symptoms in frontotemporal dementia.

Hum Brain Mapp. 2023;44(7):2684-2700. doi: 10.1002/hbm.26220. IF=4,8

Premi E, Pengo M, Mattioli I, Cantoni V, Dukart J, Gasparotti R, Buratti E, Padovani A, Bocchetta M, Todd EG, Bouzigues A, Cash DM, Convery RS, Russell LL, Thomas DL, van Swieten JC, Jiskoot LC, Seelaar H, Galimberti D, Sanchez-Valle R, Laforce R Jr, Moreno F, Synofzik M, Graff C, Masellis M, Tartaglia MC, Rowe JB, Tsvetanov KA, Vandenberghe R, Finger E, Tagliavini F, de Mendonça A, Santana I, Butler CR, Ducharme S, Gerhard A, Danek A, Levin J, Otto M, Sorbi S, Le Ber I, Pasquier F, Rohrer JD, Borroni B;

Genetic Frontotemporal dementia Initiative (GENFI). Early neurotransmitters changes in prodromal frontotemporal dementia: A GENFI study.

Neurobiol Dis. 2023;179:106068. doi: 10.1016/j.nbd.2023.106068. IF=6,1

Samra K, MacDougall AM, Bouzigues A, Bocchetta M, Cash DM, Greaves CV, Convery RS, Hardy C, van Swieten JC, Seelaar H, Jiskoot LC, Moreno F, Sanchez-Valle R, Laforce R, Graff C, Masellis M, Tartaglia MC, Rowe JB, Borroni B, Finger E, Synofzik M, Galimberti D, Vandenberghe R, de Mendonça A, Butler CR, Gerhard A, Ducharme S, Le Ber I, Santana I, Pasquier F, Levin J, Otto M, Sorbi S, Warren JD, Rohrer JD, Russell LL; *GENetic Frontotemporal dementia Initiative (GENFI). Genetic forms of primary progressive aphasia within the GENetic Frontotemporal dementia Initiative (GENFI) cohort: comparison with sporadic primary progressive aphasia.*

Brain Commun. 2023;5(2):fcad036. doi: 10.1093/braincomms/fcad036. IF=not available yet

Bocchetta M, Todd EG, Bouzigues A, Cash DM, Nicholas JM, Convery RS, Russell LL, Thomas DL, Malone IB, Iglesias JE, van Swieten JC, Jiskoot LC, Seelaar H, Borroni B, Galimberti D, Sanchez-Valle R, Laforce R, 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, Sorbi S, Le Ber I, Pasquier F, Rohrer JD; Genetic Frontotemporal dementia Initiative (GENFI). Structural MRI predicts clinical progression in presymptomatic genetic frontotemporal dementia: findings from the GENetic Frontotemporal dementia Initiative cohort.

Brain Commun. 2023 Mar 10;5(2):fcad061. doi: 10.1093/braincomms/fcad061. eCollection 2023. IF= not available yet

Sacchi L, Contarino VE, Siggillino S, Carandini T, Fumagalli GG, Pietroboni AM, Arcaro M, Fenoglio C, Orunesu E, Castellani M, Casale S, Conte G, Liu C, Triulzi F, Galimberti D, Scarpini E, Arighi A.

Banks of the Superior Temporal Sulcus in Alzheimer's Disease: A Pilot Quantitative Susceptibility Mapping Study.

J Alzheimers Dis. 2023 93(3):1125-34. doi: 10.3233/JAD-230095 IF=4

European Alzheimer's & Dementia Biobank Mendelian Randomization (EADB-MR) Collaboration; Luo J, Thomassen JQ, Bellenguez C, Grenier-Boley B, de Rojas I, Castillo A, Parveen K, Küçükali F, Nicolas A, Peters O, Schneider A, Dichgans M, Rujescu D, Scherbaum N, Jürgen D, Riedel-Heller S, Hausner L, Porcel LM, Düzel E, Grimmer T, Wiltfang J, Heilmann-Heimbach S, Moebus S, Tegos T, Scarmeas N, Clarimon J, Moreno F, Pérez-Tur J, Bullido MJ, Pastor P, Sánchez-Valle R, Álvarez V, Boada M, García-González P, Puerta R, Mir P, Real LM, Piñol-Ripoll G, García-Alberca JM, Royo JL, Rodríguez-Rodríguez E, Soininen H, Kuulasmaa T, de Mendonça A, Mehrabian S, Hort J, Vyhnalek M, van der Lee S, Graff C, Papenberg G, Giedraitis V, Boland A, Bacq-Daian D, Deleuze JF, Nicolas G, Dufouil C, Pasquier F, Hanon O, Debette S, Grünblatt E, Popp J, Benussi L, Galimberti D, Arosio B, Mecocci P, Solfrizzi V, Parnetti L, Squassina A, Tremolizzo L, Borroni B, Nacmias B, Sorbi S, Caffarra P, Seripa D, Rainero I, Daniele A, Masullo C, Spalletta G, Williams J, Amouyel P, Jessen F, Kehoe P, Magda T, Rossi G, Sánchez-Juan P, Sleegers K, Ingelsson M, Andreassen OA, Hiltunen M, Van Duijn C, Sims R, van der Flier W, et al.

Genetic Associations Between Modifiable Risk Factors and Alzheimer Disease.

JAMA Netw Open. 2023;6(5):e2313734. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2023.13734 IF=13,8

Turri M, Conti E, Pavanello C, Gastoldi F, Palumbo M, Bernini F, Aprea V, Re F, Barbiroli A, Emide D, Galimberti D, Tremolizzo L, Zimetti F, Calabresi L; AGAINST-AD Group.

Plasma and cerebrospinal fluid cholesterol esterification is hampered in Alzheimer's disease.

Alzheimers Res Ther. 2023;15(1):95. doi: 10.1186/s13195-023-01241-6. IF=9

La Rosa F, Agostini S, Piancone F, Marventano I, Hernis A, Fenoglio C, Galimberti D, Scarpini E, Saresella M, Clerici M. TREM2

Expression and Amyloid-Beta Phagocytosis in Alzheimer's Disease.

Int J Mol Sci. 2023;24(10):8626. doi: 10.3390/ijms24108626. IF=5,6

Samra K, MacDougall AM, Bouzigues A, Bocchetta M, Cash DM, Greaves CV, Convery RS, van Swieten JC, Jiskoot L, Seelaar H, Moreno F, Sanchez-Valle R, Laforce R, Graff C, Masellis M, Tartaglia MC, Rowe JB, Borroni B, Finger E, Synofzik M, Galimberti D, Vandenberghe R, de Mendonça A, Butler CR, Gerhard A, Ducharme S, Le Ber I, Tiraboschi P, Santana I, Pasquier F, Levin J, Otto M, Sorbi S, Rohrer JD, Russell LL;

Genetic FTD Initiative (GENFI). Prodromal language impairment in genetic frontotemporal dementia within the GENFI cohort.

J Neurol Sci. 2023; 451:120711. doi: 10.1016/j.jns.2023.120711 IF=4,4

Dongiovanni P, Meroni M, Casati S, Goldoni R, Thomaz DV, Kehr NS, Galimberti D, Del Fabbro M, Tartaglia GM.

Salivary biomarkers: novel noninvasive tools to diagnose chronic inflammation.

Int J Oral Sci. 2023;15(1):27. doi: 10.1038/s41368-023-00231-6. IF=14,9

Sorrentino F, Fenoglio C, Sacchi L, Serpente M, Arighi A, Carandini T, Arosio B, Ferri E, Arcaro M, Visconte C, Rotondo E, Scarpini E, Galimberti D.

Klotho Gene Expression Is Decreased in Peripheral Blood Mononuclear Cells in Patients with Alzheimer's Disease and Frontotemporal Dementia.

J Alzheimers Dis. 2023;94(3):1225-31. doi: 10.3233/JAD-230322. IF=4

Cotelli M, Baglio F, Manenti R, Blasi V, Galimberti D, Gobbi E, Pagnoni I, Rossetto F, Rotondo E, Esposito V, De Icco R, Giudice C, Tassorelli C, Catricalà E, Perini G, Alaimo C, Campana E, Benussi L, Ghidoni R, Binetti G, Carandini T, Cappa SF.

A Multimodal Approach for Clinical Diagnosis and Treatment of Primary Progressive Aphasia (MAINSTREAM): A Study Protocol.

Brain Sci. 2023;13(7):1060. doi: 10.3390/brainsci13071060. IF=3,3

Sacchi L, Arcaro M, Carandini T, Pietroboni AM, Fumagalli GG, Fenoglio C, Serpente M, Sorrentino F, Visconte C, Pintus M, Conte G, Contarino VE, Scarpini E, Triulzi F, Galimberti D, Arighi A. *Association between enlarged perivascular spaces and cerebrospinal fluid aquaporin-4 and tau levels: report from a memory clinic. Front Aging*

Neurosci. 2023;15:1191714. doi: 10.3389/fnagi.2023.1191714. IF=4,8

Buccellato FR, D'Anca M, Tartaglia GM, Del Fabbro M, Scarpini E, Galimberti D.

Treatment of Alzheimer's Disease: Beyond Symptomatic Therapies.

Int Journal Molecular Sciences 2023;24:13900. 10.3390/ijms241813900 IF=5,6

Visconte C, Fenoglio C, Serpente M, Muti P, Sacconi A, Rigoni M, Arighi A, Borracchi V, Arcaro M, Arosio B, Ferri E, Golia MT, Scarpini E, Galimberti D.

Altered Extracellular Vesicle miRNA Profile in Prodromal Alzheimer's Disease.

Int J Mol Sci. 2023;24(19):14749. doi: 10.3390/ijms241914749. IF=5,6

Ullgren A, Öijerstedt L, Olofsson J, Bergström S, Remnestrål J, van Swieten JC, Jiskoot LC, Seelaar H, Borroni B, Sanchez-Valle R, Moreno F, Laforce R, Synofzik M, Galimberti D, Rowe JB, Masellis M, Tartaglia MC, Finger E, Vandenberghe R, de Mendonça A, Tiraboschi P, Santana I, Ducharme S, Butler CR, Gerhard A, Otto M, Bouzigues A, Russell L, Swift IJ, Sogorb-Esteve A, Heller C, Rohrer JD, Månberg A, Nilsson P, Graff C;

Genetic Frontotemporal Dementia Initiative (GENFI). Altered plasma protein profiles in genetic FTD - a GENFI study.

Mol Neurodegener 2023;18(1):85. doi: 10.1186/s13024-023-00677-6. IF=15,1

Dongiovanni P, Meroni M, Aiello G, D'Amato A, Cenzato N, Casati S, Damiani G, Fenoglio C, Galimberti D, Grossi E, Prati D, Lamorte G, Bianco C, Valenti L, Soggiu A, Zapperi S, La Porta CAM, Del Fabbro M, Tartaglia GM.

Salivary proteomic profile of young healthy subjects.

Front Mol Biosci. 2023;10:1327233. doi: 10.3389/fmolb.2023.1327233. IF=5

Shafiei G, Bazinet V, Dadar M, Manera AL, Collins DL, Dagher A, Borroni B, Sanchez-Valle R, Moreno F, Laforce R, Graff C, Synofzik M, Galimberti D, Rowe JB, Masellis M, Tartaglia MC, Finger E, Vandenberghe R, de Mendonça A, Tagliavini F, Santana I, Butler C, Gerhard A, Danek A, Levin J, Otto M, Sorbi S, Jiskoot LC, Seelaar H, van Swieten JC, Rohrer JD, Misic B, Ducharme S; *Frontotemporal Lobar Degeneration Neuroimaging Initiative (FTLDNI); GENetic Frontotemporal dementia Initiative (GENFI). Network structure and transcriptomic vulnerability shape atrophy in frontotemporal dementia.*

Brain 2023;146(1):321-336. doi: 10.1093/brain/awac069. IF=14,5

D'Anca M, Buccellato FR, Tartaglia GM, Del Fabbro M, Muti P, Scarpini E, Galimberti D, Ghezzi L. Why is multiple sclerosis more frequent in women? Role of the immune system and of oral and gut microbiota. *Applied Sciences* 2023; 13: 5881. <https://doi.org/10.3390/app13105881> IF=2,6

Cantoni C, Ghezzi L, Choi J, Cross AH, Piccio L.

Targeting miR-223 enhances myeloid-derived suppressor cell suppressive activities in multiple sclerosis patients.

Mult Scler Relat Disord. 2023;76:104839. doi: 10.1016/j.msard.2023.104839. IF=4

Filipello F, You SF, Mirfakhar FS, Mahali S, Bollman B, Acquarone M, Korvatska O, Marsh JA, Sivaraman A, Martinez R, Cantoni C, De Feo L, Ghezzi L, Minaya MA, Renganathan A, Cashikar AG, Satoh JI, Beatty W, Iyer AK, Cella M, Raskind WH, Piccio L, Karch CM.

Defects in lysosomal function and lipid metabolism in human microglia harboring a TREM2 loss of function mutation.

Acta Neuropathol. 2023;145(6):749-772. doi: 10.1007/s00401-023-02568-y. IF=12,7

Rahmani F, Ghezzi L, Tosti V, Liu J, Song SK, Wu AT, Rajamanickam J, Obert KA, Benzinger TLS, Mittendorfer B, Piccio L, Raji CA.

Twelve Weeks of Intermittent Caloric Restriction Diet Mitigates Neuroinflammation in Midlife Individuals with Multiple Sclerosis: A Pilot Study with Implications for Prevention of Alzheimer's Disease.

J Alzheimers Dis. 2023;93(1):263-273. doi: 10.3233/JAD-221007. IF=4

Ghezzi L, Bollman B, De Feo L, Piccio L, Trapp BD, Schmidt RE, Cross AH.

Schwann Cell Remyelination in the Multiple Sclerosis Central Nervous System.

Lab Invest. 2023;103(6):100128. doi: 10.1016/j.labinv.2023.100128. IF=5

Preti AN, Diana L, Castaldo R, Pischedda F, Difonzo T, Fumagalli G, Arighi A, Sartori G, Zago S, Bolognini N.

Does cognitive decline influence signing?

Aging Clin Exp Res. 2023 Nov;35(11):2685-2691. doi: 10.1007/s40520-023-02523-7. IF=4

Ruggiero F, Zirone E, Molisso MT, Carandini T, Fumagalli G, Pietroboni A, Ferrucci R, Aiello EN, Poletti B, Silani V, Comi G, Scarpini E, Barbieri S, Arighi A, Mameli F.

Telemedicine for cognitive impairment: a telephone survey of patients' experiences with neurological video consultation.

Neurol Sci. 2023;44(11):3885-3894. doi: 10.1007/s10072-023-06903-9. IF=3,3

Carrarini C, Calisi D, De Rosa MA, Di Iorio A, D'Ardes D, Pellegrino R, Gazzina S, Pilotto A, Arighi A, Carandini T, Cagnin A, Mozzetta S, Gallucci M, Bonifati DM, Costa C, D'Antonio F, Bruno G, Cipollone F, Babiloni C, Padovani A, Onofrj M, Bonanni L.

QEEG abnormalities in cognitively unimpaired patients with delirium.

J Neurol Neurosurg Psychiatry 2023;94(3):251-254. IF=11

Iaffaldano P, Lucisano G, Guerra T, Patti F, Cocco E, De Luca G, Brescia Morra V, Pozzilli C, Zaffaroni M, Ferraro D, Gasperini C, Salemi G, Bergamaschi R, Lus G, Inglese M, Romano S, Bellantonio P, Di Monte E, Maniscalco GT, Conte A, Lugaresi A, Vianello M, Torri Clerici VLA, Di Sapio A, Pesci I, Granella F, Totaro R, Marfia GA, Danni MC, Cavalla P, Valentino P, Aguglia U, Montepietra S, Ferraro E, Protti A, Spitaleri D, Avolio C, De Riz M, Maimone D, Cavaletti G, Gazzola P, Tedeschi G, Sessa M, Rovaris M, Di Palma F, Gatto M, Cargnelutti D, De Robertis F, Logullo FO, Rini A, Meucci G, Ardito B, Banfi P, Nasuelli D, Paolicelli D, Rocca MA, Portaccio E, Chisari CG, Fenu G, Onofrj M, Carotenuto A, Ruggieri S, Tortorella C, Ragonese P, Nica M, Amato MP, Filippi M, Trojano M;

Italian MS Register. Evaluation of drivers of treatment switch in relapsing multiple sclerosis: a study from the Italian MS Registry.

J Neurol. 2023 Dec 22. doi: 10.1007/s00415-023-12137-8. IF=6

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

- Prof. D. Galimberti – Deputy Editor della rivista Journal of Alzheimer's disease
- Dott. A. Arighi - Editor della rivista Journal of Alzheimer's disease

6. MEMBERSHIP SOCIETÀ SCIENTIFICHE

- Prof. E. Scarpini – socio fondatore e membro del Consiglio Direttivo dell'Associazione per la ricerca sulle demenze della Società Italiana di Neurologia (SINDEM)
- Prof.ssa D. Galimberti – membro del Consiglio Direttivo della SINDEM
- Dott. A. Arighi - membro del Consiglio Scientifico della SINDEM
- Prof.ssa D. Galimberti – membro della Società Italiana di Biologia e Genetica

7. MEMBERSHIP ASSEGNAZIONE GRANTS

- Prof. ssa D. Galimberti membro della commissione Joint Program on Neurodegenerative Diseases
- Prof. ssa D. Galimberti - membro della commissione per l'assegnazione grants della Research Foundation Flanders – FWO (Belgio)

8. FINANZIAMENTI

- Fondazione Gigi e Pupa Ferrari Onlus 10.000 nel 2022 - UniMi - finanziamento totale E 30.000 (2021-2023)
- Ricerca Finalizzata 2018 Ministero della Salute: "Healthy versus pathological aging: role of exosome-derived non coding RNA and inflammatory transcripts in frailty and dementia" – RF-2018-12365333 – coPI – E 446826,43 (2019-2024)
- Identification of the Molecular Mechanisms of non-response to Treatments, Relapses and Remission in Autoimmune, Inflammatory, and Allergic Conditions" (Acronym: 3TR) FINANZIATO NELL'AMBITO DEL PROGRAMMA HORIZON2020, CALL "H2020-JTI-IMI2-2018-14-two-stage – partner (2019-2026)
- - JPND call 2019 "Multinational research projects on Personalised Medicine for Neurodegenerative Diseases" Project DIPPA-FTD (Diagnostic and Prognostic Precision medicine Algorithm for bvFTD) – partner – MIUR – E 147.087,50 (2020-2024)

- Ricerca Corrente IRCCS Policlinico E 89.190
- Ricerca Finalizzata Giovani Ricercatori 2019 Ministero della Salute: “DISsecting Behavioral variant frontotemporal dementia AND bipolar disorder: an integrated epigenetic-neuroimaging approach (DISBAND)”. GR-2019-12369100 – E 450.000 (2021-2025)

**U.O. NEUROLOGIA e U.O. NEUROFISIOLOGIA LABORATORIO
SPERIMENTALE DI NEUROSCIENZE ISTITUTO AUXOLOGICO
ITALIANO IRCCS
SEZIONE DISTACCATA CENTRO “DINO FERRARI”**

DIRETTORE:

Prof. Dott. Vincenzo Silani

DIRETTORE U.O. NEUROLOGIA

Prof. Nicola Ticozzi

DIRETTORE U.O. NEUROFISIOLOGIA

Dott. Luca Maderna

MEDICI:

Dott. Stefano Messina

Dott. Andrea Ciammola

Dott.ssa Claudia Morelli

Dott.ssa Barbara Corrà

Dott. Alberto Doretti

Dott.ssa Daniela Ungaro

Dott.ssa Eleonora Colombo

Dott. Alessio Maranzano

Dott.ssa Paola Mattaliano

RICERCATORI:

Dott.ssa Barbara Poletti

Dott. Federico Verde

PSICOLOGI:

Dott.ssa Federica Solca

Dott. Edoardo Aiello

Dott.ssa Annalisa Lafronza

Dott.ssa Alessandra Gnesa

Dott.ssa Roberta Fratoni

Dott.ssa Silvia Torre

Dott.ssa Alice Zanin

Dott.ssa Elisa Camporeale

Dott.ssa Chiara Curatoli

PNEUMOLOGO:

Dott. Paolo Banfi

CONSULENTI NEUROLOGI:

Dott. Riccardo Doronzo

TECNICI DI NEUROFISIOLOGIA:

Dott. Gianluca Demirtzidis

Barbara Riccardi

Francesca Gregorini

Anna Motta

Valeria Di Stefano

Aurora Cremonesi

Davide Reggi

STUDY NURSE CENTRO TRIAL CLINICI:

Dott.ssa Martina Sodano

PROJECT MANAGER RIN

Valerio Corvaglia

SEGRETERIA SCIENTIFICA DIPARTIMENTO NEUROLOGIA

Patrizia Nelli

LABORATORIO SPERIMENTALE DI RICERCHE DI NEUROSCIENZE

PROFESSORE ASSOCIATO GENETICA:

Dott.ssa Antonia Ratti

BIOLOGI:

Dott.ssa Patrizia Bossolasco

Dott. Alberto Brusati

Dott. Anna De Gobbi

Dott.ssa Sabrina Invernizzi

Dott.ssa Chiara Lattuada

Dott.ssa Ilaria Milone

Dott.ssa Serena Santangelo

Dott.ssa Marta Sorce

BIOTECNOLOGI:

Dott.ssa Silvia Peverelli

Dott. Valeria Casiraghi

RAPPORTI DI COLLABORAZIONE NAZIONALI

Prof. Giacomo Comi, Prof. Stefania Corti, Dott.ssa Daniela Galimberti, Dott. Prof. Elio Scarpini, Dott. Alessio di Fonzo **“Centro Dino Ferrari” IRCCS Ca’ Granda – Ospedale Maggiore Policlinico, Milano**

Dott.ssa Cinzia Gellera, Dott. Franco Taroni, Prof. Giuseppe Lauria Pinter, Dott.ssa Giacomina Rossi, Dott. Fabrizio Tagliavini, Dott. Pietro Tiraboschi, Dott. F. Moda
IRCCS Istituto C. Besta, Milano

Prof.ssa Valeria Sansone **Centro Clinico Nemo, Milano**

Prof.ssa Carolina Lombardi **Centro Sonno Istituto Auxologico Italiano IRCCS, Milano**

Prof. Luca Persani **Dipartimento di Endocrinologia IRCCS Istituto Auxologico Italiano, Milano**

Prof.ssa Palma Finelli, Dott.ssa Daniela Giardino, **Laboratorio di Citogenetica, IRCCS Istituto Auxologico Italiano, Milano**

Dott. Luigi Sironi, Dott. A.E. Rigamonti, **Dipartimento di Farmacologia Università di Milano - CEND**

Prof. Fabio Triulzi, Dott. Alessandro Sillani, Dott.ssa Clara Sina, Dott. Giorgio Conte, Ing. Valeria Contarino, **IRCCS Ca’ Granda – Ospedale Maggiore Policlinico, Milano**

Prof. Massimo Filippi, Prof.ssa Federica Agosta, **Neuroimaging Research Unit and Department of Neurology, Institute of Experimental Neurology, Milano**

Prof. Andrea Falini, **Division of Neuroscience and Department of Neuroradiology, Vita-Salute University and San Raffaele Scientific Institute, Milan**

Dott. Emanuele Buratti, Dott. Marco Baralle **Laboratory of Molecular Pathology International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology (ICGEB), Trieste**

Prof. Angelo Poletti, Dott.ssa Valeria Crippa **Dipartimento di Scienze Farmacologiche 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. Adriano Chiò, Prof. Andrea Calvo, **Università degli Studi di Torino**

Dott.ssa R. Ghidoni, Dott.ssa L. Benussi, **IRCCS Centro San Giovanni di Dio Fatebenefratelli, Brescia**

RAPPORTI DI COLLABORAZIONE INTERNAZIONALI

Prof. Robert H. Brown, Prof. John Landers, **University of Massachusetts Medical School, Department of Neurology Worcester, MA, USA**

Prof.ssa Claudia Fallini, **Ryan Institute for Neuroscience University of Rhode Island Kingston Rhode Island, RI, USA**

Prof. Albert Ludolph, **Dipartimento di Neurologia Università di Ulm, Germania**

Prof. Markus Otto, **Dipartimento di Neurologia, Università Martin Luther di Halle-Wittenberg, Halle (Saale), Germania.**

Prof. Ammar Al-Chalabi, Prof. Christopher Shaw, **Dipartimento di Neurologia King's College, London**

Prof. Leonard Petrucelli, **Department of Neurology Mayo Clinic, Florida, USA**

Prof. Markus Weber, **Dipartimento di Neurologia Università di St. Gallen, Svizzera**

Dott. Damian Wollny, **Max Planck Institute, Leipzig, Germania**

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**

Il Dipartimento di Neuroscienze e Laboratorio Sperimentale di Ricerche di Neuroscienze presso l'IRCCS Istituto Auxologico Italiano con la UO di Neurologia in convenzione con l'Università degli Studi di Milano diretta dal Prof. Nicola Ticozzi fa parte del costituito CRC Centro "Dino Ferrari" nella lunga tradizione dal 2002, anno di fondazione della UO di Neurologia. Il Dipartimento annovera oggi la UO di Neurologia in convenzione con l'Università degli Studi di Milano accanto alla UO di Neurofisiopatologia diretta dal Dott. Luca Maderna. Il Dipartimento ha prodotto nel 2023 un rilevante numero di contributi scientifici volti a definire i meccanismi patogenetici delle diverse patologie neurodegenerative, con traslazione dalla clinica al laboratorio nella finalità di definire la terapia di malattie per lungo tempo considerate scarsamente curabili. Il Dipartimento ha continuato a dimostrare interesse per una nuova area della neurologia dopo la pandemia da COVID-19, in particolare relativamente al long-COVID. 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 studiate con ulteriore sviluppo dei Centri dedicati alla valutazione clinica e strumentale dei pazienti con complementare raccolta di biomarcatori ed elaborazione di innovative strategie terapeutiche. E' continuata la crescita del Centro Trial Clinici che si è avviato a sviluppare approcci di terapia genica intratecale con antisense preprendosi a somministrare anticorpi monoclonali in diverse patologie neurodegenerative.

Parallelamente all'attività clinica e di ricerca, è proseguita la formazione di studenti, giovani medici, MD/PhD, biologi e biotecnologi.

Il Centro "Dino Ferrari" ha continuato a rappresentare un interlocutore internazionalmente riconosciuto per casistiche di pazienti affetti da diverse malattie neurodegenerative, di cui SLA/FTD in particolare, con sviluppo di nuove tecnologie di telemedicina che hanno permesso di seguire i Pazienti anche da remoto.

Il Prof. Vincenzo Silani è Direttore dal 2017 del Centro dell'European Reference Network-Neuromuscular Diseases (ERN-NMD) con particolare riferimento alla patologia motoneuronale: il Centro è preparato a fornire in rete consulenze per pazienti in Europa. Il Prof. V. Silani è stato inoltre designato dal Febbraio 2023 a condurre nell'ERN-NMD l'area relativa alle patologie del motoneurone. Inoltre, nel 2023 ha costituito nell'ambito della RIN (Rete delle Neuroscienze e della Neuroriabilitazione) l'Istituto Virtuale Malattie del Motoneurone con la partecipazione di 13 IRCCS.

Il Centro SLA dell'Istituto Auxologico Italiano IRCCS continua a far parte, inoltre, del Northeast ALS Consortium (NEALS-USA), dell'ENCALS, di MinE, di TRICALS, ed ha aderito all'Italian Frontotemporal Dementia Network (FTD Group-SINDEM).

Nel 2023 è proseguita l'intensa attività della UO di Neurofisiologia diretta dal Dott. Luca Maderna, anche 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 UO dedicata e diretta dalla Prof. Carolina Lombardi. Si è aggiunta l'elettroceutica per la stimolazione della corteccia motoria nella patologia motoneuronale in collaborazione con il Prof. Vincenzo Di Lazzaro dell'Università Campus Bio Medico di Roma che ha fornito i risultati del primo trial clinico in pazienti affetti da SLA.

Nel 2023 è stato ulteriormente sviluppato il Servizio di Neuropsicologia e Psicologia Clinica coordinato dalla Dott.ssa Barbara Poletti che ha maturato una posizione accademica di RTDB presso la Università degli Studi di Milano nonché l'idoeneità nazionale a Professore Ordinario. A fianco all'attività clinica rivolta allo screening, alla diagnosi differenziale ed alla riabilitazione dell'impairment cognitivo e delle Demenze si pone il sostegno psicologico ai pazienti affetti da patologia neurodegenerativa e dei loro caregiver. Sono state ulteriormente approfondite linee di ricerca che hanno compreso la messa a punto e l'implementazione di 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) che si è dimostrato di grande utilità in epoca COVID-19. Inoltre, è stato ulteriormente sviluppato l'impiego, nella valutazione longitudinale dei pazienti SLA, della versione italiana dell'Edinburgh Cognitive and Behavioural ALS Screen (ECAS). Particolare attenzione è stata data allo sviluppo di tecnologia di brain-computer-interface (BCI) con sviluppo di diversi prototipi operativi. 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 Prof.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 ulteriormente sviluppati studi di ricerca dei pazienti affetti da patologia neurodegenerativa mediante l'utilizzo della RM 3 Tesla anche dopo acquisizione di un Neuroradiologo con funzioni primarie in Istituto, la Dott.ssa Claudia Cinnante che ha sviluppato in Istituto specifici pacchetti di studio per le diverse patologie.

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 è locato il Laboratorio di Ricerche di Neuroscienze, in particolare per quanto riguarda l'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, con sviluppo ulteriore del 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 la sincronia di ricerca con diversi Centri Italiani. La diagnostica molecolare è stata arricchita potendo fornire oggi un pannello diagnostico completo per le malattie del motoneurone (SLA), le Demenze (FTD e la Malattia di Alzheimer) e 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 preliminarmente nuovi geni causativi nell'ambito di una vasta collaborazione internazionale. Analogamente, importante impulso è stato dato alla ricerca di biomarcatori proteici liquorali e sierici mediante SIMOA che viene utilizzato per la definizione dei valori sierici/liquorali del neurofilamento e di nuovi biomarcatori come GFAP e TAU nella SLA.

La migliore espressione dell'attività svolta dalla Sede Distaccata del Centro "Dino Ferrari" sta nell'ulteriore consenso internazionale raggiunto nel 2023 anche per ricercatori che stanno svolgendo o hanno completato periodi formativi in qualificati Laboratori in Europa o Nord-America con cui il Centro "Dino Ferrari" ha scambi collaborativi di elevato livello.

L'Istituto Auxologico Italiano IRCCS è parte integrante della Rete Italiana dei NeuroIRCCS ed il Prof. V. Silani coadiuva il Direttore Scientifico nei diversi compiti istituzionali, rappresentando l'IRCCS in diverse occasioni: è infatti Referente istituzionale nella Rete dei NeuroIRCCS per delibera del Consiglio di Amministrazione. Nell'ambito dei NeuroIRCCS è stata guadagnato il riconoscimento in quattro istituti virtuali (Demenze, e Malattia di Parkinson, Malattie Cerebrovascolari, Malattie Rare) di cui il Prof. V. Silani è presente nel Consiglio Direttivo con interazione con due piattaforme (genetica e proteomica) nell'ambito della stessa Rete dei NeuroIRCCS (RIN). Nel 2021 il Prof. V. Silani è stato eletto infatti nel Consiglio Direttivo della RIN (2021 – 2025) ed ha organizzato nel 2023 un nuovo Istituto Virtuale dedicato alla Malattie del Motoneurone a coinvolgere 13 NeuroIRCCS: in una serie di riunioni programmatiche è stato deciso di focalizzare l'interesse al gene *C9orf72* con ampio studio delle casistiche e delle caratteristiche patogenetiche nonché dei biomarcatori. Uno specifico project manager è stato definito.

Il Prof. V. Silani è parte all'editorial Board di European Neurology, ALS/FTD, American Journal of Neurodegenerative Diseases ed Annals of Transplantation Research. È stato nel 2023 Esaminatore per l'European Board of Neurology dell'U.E.M.S.. Il Prof. V. Silani è Membro della Society of Neuroscience U.S.A da oltre 30 anni.

PRINCIPALI ARGOMENTI DI RICERCA

SVILUPPO DI UN MODELLO DI INTELLIGENZA ARTIFICIALE PER LA ESTRAZIONE DEI DATI CLINICI DALLE CARTELLE DEI PAZIENTI DELL'ISTITUTO VIRTUALE DEMENZE

Lo studio (Crema et al., J Biomed Inform 2023) è stato condotto dagli informatici dell'Istituto Virtuale Demenze in collaborazione con i clinici. Uno degli aspetti più importanti nella ricerca sulle demenze attuale e del futuro è costituito dalla efficiente estrazione dei dati dalla documentazione medica dei pazienti. Ciò può essere supportato dalla attività di information extraction che è un campo del natural language processing. In questo lavoro è stato creato il primo dataset neuropsichiatrico italiano di Named Entity Recognition, PsyNIT. Esso è stato utilizzato per sviluppare un modello basato sulla library Transformers. Inoltre sono stati raccolti tre dataset esterni indipendenti (tra i quali

quello costituito dai pazienti dell'IRCCS Auxologico facenti parte dell'Istituto Virtuale Demenze), che hanno formato la base per costruire un modello multicentrico efficace, con punteggio F1 complessivo 84,77%, precisione 83,16% e richiamo 86,44%. L'innovativo studio costituirà un punto di riferimento per il futuro sviluppo di tecniche di intelligenza artificiale finalizzate alla estrazione dei dati clinici dei pazienti sia per scopi di ricerca sia per scopi assistenziali.

STUDIO SULLA INCIDENZA E L'OUTCOME FUNZIONALE A LUNGO TERMINE DEI DISTURBI NEUROLOGICI NEI PAZIENTI OSPEDALIZZATI CON COVID-19 IN EPOCA PRE-OMICRON

Lo studio "Neuro-COVID Italy" (Beretta et al., Neurology 2023) aveva l'obiettivo di determinare la dinamica di incidenza e l'outcome funzionale a lungo termine dei disturbi neurologici associati a COVID-19. Si è trattato di uno studio multicentrico, osservazionale, di coorte con reclutamento cosiddetto ambispettivo e follow-up prospettico. Pazienti ospedalizzati consecutivi che presentavano nuovi disturbi neurologici associati a COVID-19 ("neuro-COVID"), indipendentemente dalla gravità respiratoria, sono stati sistematicamente selezionati e reclutati attivamente da specialisti neurologi in 38 centri in Italia e nella Repubblica di San Marino. Gli outcome primari erano l'incidenza di casi neuro-COVID durante le prime 70 settimane della pandemia (marzo 2020-giugno 2021) e l'esito funzionale a lungo termine a 6 mesi, classificato come recupero completo, sintomi lievi, sintomi invalidanti o morte. Tra 52.759 pazienti ospedalizzati con COVID-19, sono stati reclutati 1.865 pazienti che presentavano 2.881 nuovi disturbi neurologici associati all'infezione da COVID-19 (neuro-COVID). L'incidenza dei casi neuro-COVID è diminuita significativamente nel tempo, confrontando le prime 3 ondate pandemiche (8,4%, 5,0% e 3,3%). I disturbi neurologici più frequenti erano encefalopatia acuta (25,2%), iposmia-ipogeusia (20,2%), ictus ischemico acuto (18,4%) e deterioramento cognitivo (13,7%). L'insorgenza di disturbi neurologici è stata più comune nella fase prodromica (44,3%) o durante la malattia respiratoria acuta (40,9%), ad eccezione del deterioramento cognitivo la cui insorgenza è prevalsa durante il recupero (48,4%). Un outcome funzionale favorevole è stato raggiunto dalla maggior parte dei pazienti con neuro-COVID (64,6%) durante il follow-up e la percentuale di outcome favorevoli è aumentata durante tutto il periodo di studio. Sono stati segnalati frequentemente lievi sintomi residui (28,1%), mentre sintomi invalidanti erano comuni solo nei sopravvissuti all'ictus (47,6%).

STUDIO PILOTA SULLA PROTEINA TAU FOSFORILATA (P-TAU181) PLASMATICA (MISURATA SU PIATTAFORMA LUMIPULSE) COME POTENZIALE NUOVO BIOMARCATORE DELLA SCLEROSI LATERALE AMIOTROFICA

Recentemente è stato segnalato che i livelli plasmatici della proteina tau fosforilata (P-tau181) sono aumentati nella sclerosi laterale amiotrofica (SLA) e associati alla degenerazione del secondo motoneurone. Nel nostro studio, che è stato il terzo nella letteratura su questo argomento (Verde et al., Neurol Sci 2023), abbiamo quantificato i livelli plasmatici di P-tau181 in una coorte di 29 pazienti affetti da SLA utilizzando un nuovo assay automatizzato sulla piattaforma Lumipulse, ed abbiamo analizzato le correlazioni fenotipo-biomarcatore. I livelli di P-tau181 correlavano positivamente con uno score clinico di deficit del secondo motoneurone ma non con uno score clinico di danno del primo motoneurone. In accordo con ciò, la P-tau181 plasmatica correlava con gli indici elettromiografici di denervazione spinale attiva e cronica ma non con parametri di stimolazione magnetica transcranica esprimanti una disfunzione del primo motoneurone. I livelli plasmatici di P-tau181 non erano correlati con i livelli liquorali del medesimo biomarcatore, con i livelli sierici di NFL (catena leggera dei neurofilamenti) o GFAP (proteina gliale fibrillare acida), con il quoziente albuminico (rapporto tra concentrazioni liquorale e sierica della albumina, un indice di funzionamento della cosiddetta barriera emato-liquorale) o con la velocità di filtrazione glomerulare stimata (indice di funzionale renale). Al contrario, i livelli plasmatici di P-tau181 correlavano con i livelli plasmatici di creatina chinasi (un indice di danno delle fibre muscolari, a sua volta dipendente da degenerazione del secondo motoneurone). Infine, la P-tau181 plasmatica non era associata al fenotipo neuropsicologico ma correlava con indici di deficit ventilatorio nella emogasanalisi arteriosa (correlazione negativa con

pH e correlazioni positive con pressione parziale di anidride carbonica (PaCO₂), concentrazione di bicarbonato ed eccesso di basi). Lo studio ha mostrato che la P-tau181 plasmatica ha un potenziale come biomarcatore della SLA e potrebbe essere associata alla degenerazione del secondo motoneurone e alla disfunzione respiratoria.

STUDIO DEI CORRELATI FENOTIPICI DEI LIVELLI SIERICI DI NFL (CATENA LEGGERA DEI NEUROFILAMENTI) NEI PAZIENTI CON SCLEROSI LATERALE AMIOTROFICA

Lo studio (Verde et al., Front Aging Neurosci 2023) aveva l'obiettivo di studiare la relazione tra i livelli sierici della catena leggera dei neurofilamenti (NFL), biomarcatore di degenerazione neuroassonale, e il fenotipo della sclerosi laterale amiotrofica (SLA). La concentrazione sierica di NFL è stata quantificata in 209 pazienti affetti da SLA e 46 controlli neurologicamente sani. Come atteso, NFL era chiaramente aumentato nei pazienti con SLA e li discriminava efficacemente dai controlli (area sotto la curva, 0,9694). Tra i pazienti affetti da SLA, le femmine avevano livelli di NFL più elevati, soprattutto in caso di esordio bulbare. NFL era più elevato nei fenotipi con segni sia di primo motoneurone sia di secondo motoneurone, e in particolare in quelli con predominanza di primo motoneurone. Allo stesso tempo, la sclerosi laterale primaria (PLS) presentava livelli significativamente più bassi rispetto alla SLA con prevalenti segni di primo motoneurone (area sotto la curva, 0,7667). NFL correlava negativamente con la durata della malattia al momento del prelievo e con lo score funzionale ALSFRS-R, correlava positivamente con il tasso di progressione della malattia, differiva tra gli stadi del King's College (sistema di stadiazione clinica della malattia) ed era associato negativamente con la sopravvivenza. Correlava inoltre con indici clinici/neurofisiologici di disfunzione del primo e del secondo motoneurone UMN e LMN. Al contrario, NFL non era associato a deficit cognitivi né a parametri respiratori. Infine, è stata riscontrata una correlazione negativa tra NFL sierico e velocità di filtrazione glomerulare stimata (indice di funzione renale). Nel complesso, lo studio conferma che la SLA è caratterizzata da aumentati livelli sierici di NFL, il cui principale determinante è la intensità della degenerazione sia del primo sia del secondo motoneurone. NFL è un biomarcatore solo della malattia motoria, non degli aspetti extra-motori (cognitivi). La correlazione negativa con la funzionalità renale potrebbe riflettere la clearance renale della molecola e rende opportune ulteriori indagini prima che la misurazione di NFL sierico venga introdotta come test di routine nella gestione clinica dei pazienti affetti da SLA.

COESISTENZA DI SCLEROSI LATERALE AMIOTROFICA E MALATTIA DI ALZHEIMER: CASE REPORT E REVIEW DELLA LETTERATURA

In questo lavoro (Verde et al., J Alzheimers Dis 2023) è stato descritto un caso di sclerosi laterale amiotrofica (SLA) associato a malattia di Alzheimer (AD) ed abbiamo passato sistematicamente in rassegna la letteratura riguardante la coesistenza delle due entità. A partire da 149 pubblicazioni, abbiamo incluso 13 studi (11 case report e 2 case series), riguardanti in totale 30 pazienti (17 femmine e 13 maschi). In 24 casi (80%), la diagnosi di AD era basata sull'esame neuropatologico. Tra i 6 casi senza esame neuropatologico disponibile, la diagnosi di AD era supportata dai biomarcatori liquorali e/o dalla PET con tracciante per amiloide-beta (A-beta). Per 13 pazienti erano disponibili informazioni sulla relazione cronologica tra l'esordio dei sintomi motori e cognitivi. Di questi, 9 (69,2%) avevano avuto un esordio neuropsicologico e 2 (15,4%) un esordio motorio, mentre in altri 2 pazienti (15,4%) i sintomi motori e cognitivi erano comparsi contemporaneamente. Per i pazienti con esordio neuropsicologico, l'intervallo di tempo medio tra l'esordio e la comparsa dei sintomi motori era di 34,2 mesi, mentre i corrispondenti intervalli per i due pazienti con esordio motorio erano rispettivamente di "pochi mesi" e 60 mesi. La durata media della malattia era di 39 mesi. Per 17 pazienti erano disponibili informazioni sulla sede di insorgenza della SLA. In 7 di questi (41,2%), il deficit motorio si era manifestato dapprima nella regione bulbare, mentre l'esordio era stato spinale solo in 6 pazienti (35,3%); in 4 pazienti (23,5%), i sintomi della SLA erano comparsi contemporaneamente nei segmenti bulbare e spinale. Escludendo 12 pazienti per i quali non erano disponibili dati sulla presenza/assenza di segni bulbari, tra gli altri 18 tali segni erano presenti nella maggioranza (15 pazienti, cioè 83,3%). L'imaging morfologico del cervello era disponibile in 15

pazienti, per 7 dei quali era stato fatto anche un esame di imaging funzionale. Il pattern topografico dell'atrofia o dell'ipofunzione cerebrale era simile all'AD in 8 casi (53,3%), simile alla demenza frontotemporale (FTD) in un caso (6,7%), e non specifico in 6 casi (40,0%). Per quanto riguarda le caratteristiche cognitive, 7 (23,3%) pazienti con SLA che mostravano patologia AD all'autopsia erano descritti come cognitivamente integri. Alcuni pazienti erano semplicemente segnalati come affetti da demenza, afasia o entrambe (rispettivamente 3, 1 e 3 casi). Per quanto riguarda i restanti 16 pazienti, per i quali erano disponibili dati cognitivi più specifici, i deficit di memoria ed esecutivi/attentivi erano i più rappresentati, seguiti da disorientamento e disfunzione del linguaggio. Disturbi aprassici e gnosici erano riportati per una esigua minoranza di casi. Per quanto riguarda i disturbi comportamentali, valutati in 18 pazienti, la disinibizione era quello più frequente (5 pazienti, 27,8%), seguita da apatia (4 pazienti, 22,2%), depressione/ansia (4 pazienti, 22,2%) ed emotività pseudobulbare (3 pazienti, 16,7%), mentre perseveranza, irritabilità e aggressività erano segnalate in piccoli numeri di pazienti. Il principale motivo di rilevanza del nostro studio consiste nel fatto che esso evidenzia che casi di decadimento cognitivo nel contesto della SLA non sono sempre espressione di demenza frontotemporale, malattia strettamente legata alla SLA, bensì talvolta possono essere dovuti a una coesistente malattia di Alzheimer. Le caratteristiche dei precedenti casi descritti nella letteratura, qui passati in rassegna analiticamente, dovrebbero aiutare a riconoscere questa evenienza nella pratica clinica, ciò che ha conseguenze rilevanti in termini di gestione dei casi (a partire dalla necessità di impostare una terapia farmacologica specifica per la malattia di Alzheimer).

INFLUENZA DELLA FUNZIONE RENALE E DEL QUOZIENTE ALBUMINICO SUI LIVELLI PLASMATICI DEI BIOMARCATORI DI PATOLOGIA A-BETA NELLA MALATTIA DI ALZHEIMER

La malattia di Alzheimer (AD) è caratterizzata da una diminuzione dei livelli liquorali del frammento proteico A β 42 e della ratio A β 42/A β 40. I peptidi A β possono ora essere misurati anche nel plasma e sono promettenti biomarcatori periferici per l'AD. In questo studio (Verde et al., Neurol Sci 2023) Abbiamo valutato le relazioni delle specie A β plasmatiche con le loro controparti nel liquido cerebrospinale, la funzione renale e il quoziente albuminico (Q-Alb; rapporto tra i livelli liquorale e sierico dell'albumina, esprime la funzione e la cosiddetta barriera emato-liquorale) nei pazienti con AD. Abbiamo misurato mediante la piattaforma autoimattizzata Lumipulse A β 42 e A β 40 nel plasma, nonché tutti e 4 i biomarcatori classici di AD nel liquor (A β 42, A β 40, tau totale e tau fosforilata) in una coorte di 30 pazienti con diagnosi clinica e neurochimica di AD. I livelli dei due peptidi A β plasmatici erano fortemente correlati tra loro ($r = 0,7449$), così come i corrispondenti biomarcatori del liquido cerebrospinale ($r = 0,7670$). Al contrario, le correlazioni positive di A β 42, A β 40 e della ratio A β 42/A β 40 nel plasma con le loro controparti liquorali non erano statisticamente significative. I livelli plasmatici di entrambe le specie A β erano correlati negativamente con la velocità di filtrazione glomerulare stimata (eGFR), indice della funzione renale (A β 42: $r = -0,4138$; A β 40: $r = -0,6015$), ma la ratio A β 42/A β 40 plasmatica no. Q-Alb non era correlato con alcun parametro A β plasmatico. Lo studio dimostra che A β 42 e A β 40 plasmatiche sono influenzate in modo critico dalla funzione renale; tuttavia, la loro ratio è vantaggiosamente risparmiata da questo effetto. La mancanza di correlazioni significative tra le specie A β plasmatiche e le loro controparti liquorali è probabilmente dovuta principalmente alla piccola dimensione del campione e all'inclusione di soli individui A β + (studio di soli casi con diagnosi clinica e neurochimica di AD). Q-Alb non sembra essere un determinante importante delle concentrazioni plasmatiche di A β , ciò che evidenzia le incertezze sui meccanismi di trasferimento di A β tra il sistema nervoso centrale e la periferia.

CENTRO DISTURBI COGNITIVI E DEMENZE (CDCD)

Il CDCD della UO Neurologia della sede Auxologico San Luca fa parte della rete nazionale dei CDCD dedicati alla diagnosi e alla gestione clinica dei casi di decadimento cognitivo. Il CDCD svolge prime visite per l'inquadramento diagnostico dei casi di disturbo cognitivo e visite di follow-up. I casi particolarmente complessi o richiedenti una diagnostica articolata possono essere indirizzati ad un ricovero nella UO Neurologia. Qui vengono svolte indagini diagnostiche quali neuroimaging

(RM encefalo), EEG, valutazione neuropsicologica e puntura lombare per analisi dei biomarcatori liquorali della malattia di Alzheimer. Tali biomarcatori vengono misurati in tempi rapidi in laboratorio mediante piattaforma automatizzata Lumipulse. Il liquor e altri liquidi biologici dei pazienti sono anche oggetto di biobancaggio del biorepository del Laboratorio di Neuroscienze annesso alla UO, che li utilizza, con il consenso informato dei pazienti, per studi neurochimici sui biomarcatori delle demenze e delle altre malattie neurodegenerative. I pazienti con decadimento cognitivo lieve (MCI, mild cognitive impairment) e demenza di grado lieve possono essere indirizzati a cicli di riabilitazione cognitiva effettuati dai neuropsicologi del Servizio di Neuropsicologia annesso alla UO Neurologia. Il CDCD eroga anche i piani terapeutici per la dispensazione dei farmaci specifici della malattia di Alzheimer (donepezil, rivastigmina e memantina). Il CDCD offre a pazienti selezionati la possibilità di sottoporsi a puntura lombare per analisi dei biomarcatori in ambito ambulatoriale (MAC, “macroattività ambulatoriale complessa”). Nel 2023 le punture lombari effettuate in ambito di MAC sono state 19. Il CDCD in quanto parte della UO Neurologia è parte integrante dell'Istituto Virtuale Demenze della Rete RIN delle Neuroscienze e della Neuroriabilitazione.

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 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* (van Rheenen et al 2016).

Studiando una coorte di >1000 pazienti affetti da SLA è stata identificata la presenza di varianti rare nel gene *NEK1* nel 2.8% dei casi (0.8% mutazioni patogenetiche, 2.0% varianti di incerto significato). In quasi un quarto dei pazienti con varianti rare di *NEK1* erano presenti ulteriori varianti rare in altri geni associati alla SLA, quali *TARDBP*, *FUS* e *C9orf72*. Per quanto riguarda *C21orf2* sono state osservate varianti rare di incerto significato nel 5.4% della coorte studiata (nessuna mutazione patogenetica). Il fenotipo clinico dei pazienti portatori di tali varianti non differiva da quello dei pazienti non mutati. Inoltre, non sono state osservate differenze significative nella metilazione dei promotori dei geni *NEK1* e *C21orf2* tra SLA e controlli.

Studi funzionali mediante over-espressione in cellule immortalizzate U2OS delle proteine mutanti *NEK1*p.R261H e *C21orf2* p.V58L con varianti di rischio già descritte in letteratura hanno evidenziato che solo la proteina mutata *NEK1*p.R261H mostra una diversa localizzazione sub-cellulare rispetto alla proteina wild-type con maggior localizzazione nucleare e che dopo induzione di danno al DNA le cellule sembrano rispondere meno efficientemente alla riparazione del danno. La riprogrammazione di fibroblasti di uno dei pazienti con doppia mutazione *NEK1/C9orf72* in cellule staminali pluripotenti indotte ha permesso di ottenere un modello in vitro di malattia più fisiologico. Nei motoneuroni differenziati da tali iPSC è stato possibile studiare sia la risposta al danno al DNA che la formazione del ciglio primario, organello regolatorio di molti processi cellulari nei neuroni tra cui l'autofagia e la risposta allo stress. Si è osservato che la risposta al danno al DNA risulta meno efficiente in tali motoneuroni da iPSC con doppia mutazione rispetto a motoneuroni da altri pazienti con la sola mutazione nel gene *C9orf72* e da controlli sani. Anche il ciglio primario è disregolato mostrando una lunghezza significativamente minore rispetto a quello dei motoneuroni da controllo sano, ma simile a quello dei motoneuroni mutati solo *C9orf72*. Inoltre, mediante gene editing con CRISPR-Cas9, è stata generata una linea iPSC con una mutazione *NEK1* di tipo loss-of-function, che è la tipologia più frequente nei pazienti SLA e che porta ad aploinsufficienza della proteina. Nei motoneuroni da essa differenziati è stato confermato che la ciliogenesi è alterata e che il ciglio primario è significativamente accorciato, similmente a quanto già riportato in altre malattie neurodegenerative, quali l'Alzheimer e il Parkinson.

In sintesi, il progetto DREPALS ha esaminato i geni NEK1 e C21orf2 nella SLA, identificando varianti rare e svelando la complessità genetica della malattia. Gli studi funzionali in cellule sovraesprimenti proteine mutanti hanno rivelato che la mutazione p.R261H in NEK1 influisce sulla localizzazione sub-cellulare e sulla risposta al danno al DNA, suggerendo un ruolo chiave nella patogenesi della SLA. Utilizzando cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC), è stato creato un modello in vitro più fisiologico, evidenziando una risposta meno efficiente al danno al DNA e una disregolazione del ciglio primario nei motoneuroni con doppia mutazione NEK1/C9orf72. Questi risultati avanzano la comprensione della SLA a livello molecolare, aprendo prospettive per future terapie mirate.

AUTOZYGOSITY MAPPING FOLLOWED BY NEXT GENERATION SEQUENCING IN UNRELATED CONSANGUINEOUS INDIVIDUALS TO IDENTIFY NOVEL ALS-ASSOCIATED GENES

(Progetto AZYGOS 2.0, finanziato da Agenzia di ricerca AriSLA – P.I. Prof. Nicola Ticozzi)

Una larga parte dell'ereditabilità mancante nella SLA è legata al mancato riconoscimento di molti casi familiari con pattern di ereditarietà di tipo recessivo. Per ovviare a questo problema è stato disegnato un protocollo sperimentale che prevede di genotipizzare mediante metodiche high-throughput una coorte di pazienti SLA, progenie di cugini di primo o di secondo grado, e di effettuare una mappatura di autozigosi al fine di individuare le regioni genomiche identiche per discendenza (IBD). Nel corso del 2023 le regioni di autozigosi identificate sono state filtrate in modo tale da individuare quelle che ricorrono più frequentemente nei casi e sono assenti nella popolazione di controllo. I pazienti selezionati (115 individui progenie di matrimonio tra consanguinei) sono stati sottoposti a sequenziamento del genoma al fine di evidenziare la presenza di mutazioni patogenetiche in omozigosi nelle regioni di autozigosi precedentemente individuate. L'analisi delle varianti recessive presenti nelle regioni di autozigosi ha portato all'identificazione di tre mutazioni loss-of-function in altrettanti geni. Tra questi, uno è già stato associato alla SLA familiare, un secondo è associato a un'altra patologia neuromuscolare, mentre l'ultimo rappresenta un nuovo gene candidato. Tale gene è coinvolto nel neurosviluppo e nella maturazione assonale e modelli murini knock-out presentano un fenotipo motorio. Nel corso del 2024 è prevista la caratterizzazione funzionale della mutazione loss-of-function individuata nella nostra coorte in modelli cellulari.

CARATTERIZZAZIONE GENETICA DEI PAZIENTI AFFETTI DA SCLEROSI LATERALE AMIOTROFICA

Nel corso del 2023 sono stati condotti diversi studi finalizzati a caratterizzare i determinanti genetici associati al fenotipo motorio, cognitivo e comportamentale nella SLA. Tali studi hanno evidenziato l'associazione di un polimorfismo nel gene KIF5A con la progressione di malattia e hanno mostrato come mutazioni nel gene MFN2, tradizionalmente associate a CMT2A, possano essere responsabili anche di quadri di SLA. E' in corso la valutazione del ruolo di polimorfismi associati a parkinsonismi atipici (paralisi sopranucleare progressiva, degenerazione corticobasale) nella patogenesi della SLA. Infine, nel 2023 è stato proseguito uno studio multicentrico finalizzato all'identificazione dei determinanti genetici della sclerosi laterale primaria a partire da dati di sequenziamento del genoma.

CARATTERIZZAZIONE FENOTIPICA DEI PAZIENTI AFFETTI DA SCLEROSI LATERALE AMIOTROFICA

(Progetto DRIVEALS, finanziato dal Ministero della Salute, Bando Ricerca Finalizzata – PI Prof. Nicola Ticozzi - Progetto PERMEALS, finanziato dal Ministero della Salute, Bando PNRR2022 – Responsabile UO Locale Prof. Nicola Ticozzi)

Nel corso del 2023 sono stati condotti diversi studi di deep-phenotyping nei pazienti affetti da Sclerosi Laterale Amiotrofica seguiti presso l'Istituto Auxologico Italiano IRCCS. Tali studi, integrando dati clinici, neurofisiologici e neuropsicologici, hanno portato alla determinazione del ruolo del deterioramento del primo motoneurone sul fenotipo malattia (Colombo et al., Front Neurol 2023) e all'identificazione di analiti ematochimici associati alla prognosi (Gentile et al., J Neurol 2023). E'

stata inoltre valutata l'associazione tra NfL plasmatico, tau fosforilata plasmatica e quoziente albuminico liquorale/sierico con le caratteristiche fenotipiche di malattia (Verde et al., Neurol Sci 2023a; Verde et al., Neurol Sci 2023b; Verde et al., Front Aging Neurosci 2023). Durante il 2023 è stato inoltre implementato un database clinico su piattaforma RedCap per l'analisi integrata dei dati (progetti DAMARE e ALS-PHENO – Ricerca Corrente IRCCS Istituto Auxologico Italiano). L'analisi di tale database ha portato all'identificazione e alla caratterizzazione clinica dei diversi pattern di spreading topografico del processo degenerativo nella SLA (Maraqzano et al., Brain 2023). Tale database sarà sfruttato nel corso del 2024 nell'ambito del progetto DRIVEALS (Ricerca Finalizzata del Ministero della Salute – PI Prof. Nicola Ticozzi) e del progetto PERMEALS (PNRR 2022 Ministero della Salute – Responsabile UO Prof. Nicola Ticozzi) che ha come obiettivo la dissezione fenotipica della SLA a partire da dati genetici e neurochimici.

iPSC: UN MODELLO PER LO STUDIO DELLE MALATTIE NEURODEGENERATIVE

Nel 2022 è stato inoltre messo a punto un protocollo per l'ottenimento di organoidi cerebrali da iPSCs. Organoidi sono stati generati da iPSCs con mutazione *loss-of-function* nel gene *NEK1* e della sua linea isogenica di controllo da noi create (vedi sopra). Gli organoidi sono stati caratterizzati mediante immunofluorescenza con tecnica whole-mount per l'espressione di marcatori neuro-gliali (Nestina, SOX2, BetaIII tubulina, MAP2, NeuN, Doublecortin e GFAP) per individuare i tipi cellulari che si formano spontaneamente nell'organoide a diversi tempi di sviluppo fino a 150 giorni ed eventuali differenze tra le due linee. Gli organoidi sono stati analizzati anche preliminarmente mediante microscopia elettronica per definire a livello ultrastrutturale possibili differenze tra organoide mutato e controllo isogenico. Abbiamo osservato qualitativamente che i mitocondri appaiono alterati morfologicamente negli organoidi *NEK1*-mutati così come il ciglio appare più piccolo, confermando così i dati già ottenuti in colture 2D di iPSC-MN.

Nel corso del 2023, sempre nell'ambito dell'utilizzo di modelli 3D per lo studio in vitro della SLA, oltre agli organoidi cerebrali sviluppati ed utilizzati nel 2022, è stato messo a punto un protocollo di organoidi differenziati in modo prevalentemente verso un fenotipo colinergico: gli organoidi MNs. Questo poiché, sebbene gli organoidi cerebrali possano rappresentare un valido modello in vitro per lo studio di diverse malattie neurodegenerative, gli organoidi MNs sarebbero più rappresentativi della SLA e potrebbero fornire la possibilità di studiare alterazioni a livello di dendriti e assoni che non sono chiaramente visibili utilizzando il modello di organoidi cerebrali. Dai primi esperimenti, gli organoidi MNs risultano esprimere al 100% due marcatori specificatamente motoneuronali quali la Choline Acetyltransferase (ChAT) e la Homeobox protein (HB9) e promettono quindi di essere un buon modello di studio per patologie correlate al motoneurone. Da questi organoidi 3D è inoltre in corso la messa a punto di un protocollo per estrarre da essi stessi motoneuroni in 2D.

Una seconda linea di investigazione del 2023 ha riguardato lo sviluppo di cellule microgliali in vitro. Infatti, la patogenesi della SLA rimane poco conosciuta, e non esistono terapie efficaci per la sua cura. Emergono però sempre più dati che dimostrano come, pur essendo i motoneuroni il tipo cellulare maggiormente affetto in questa patologia, altri tipi cellulari sono coinvolti e contribuiscono alla morte dei motoneuroni stessi. Tra questi, la microglia sembra svolgere un ruolo particolarmente importante. Indagare il coinvolgimento preciso della microglia nella SLA, migliorare la comprensione di come e in quale stadio della malattia essa contribuisca all'insorgenza o alla progressione della malattia, potrebbe consentire di identificare nuovi bersagli farmacologici per la cura della SLA. A tale scopo, nel 2023, è stato messo a punto un protocollo di differenziamento di iPSCs in cellule microgliali. Tali cellule hanno mostrato positività al 100% per la transmembrane protein 119 (TMEM-119) e la Triggering receptor expressed on myeloid cells 2 (TREM-2), due marcatori specifici di microglia non attivati, ed un 20-30% di positività per la Ionized calcium-binding adaptor molecule 1 (IBA-1), la Vimentina ed CD11b, marcatori specifici di microglia attivata. Sono in corso ulteriori esperimenti di caratterizzazione a tempi diversi in coltura che potrebbero consentire di ricapitolare la vera ontogenesi della microglia passo dopo passo, da microglia precoce a quella più matura, e valutare in quale stadio dello sviluppo microgliale potrebbero apparire caratteristiche patologiche a carico di queste cellule derivate da pazienti SLA.

GENOMIC INSTABILITY OF EXPANDED REPEATS IN HD AND ALS/FTD (Progetto Repetomics, E-Rare-3 Call JTC 2018 – P.I. Prof. Vincenzo Silani e Prof.ssa Antonia Ratti)

Alla fine del 2023 si è concluso questo progetto che ha compreso la partecipazione di 7 diversi Partners europei e canadesi e il cui obiettivo era lo studio dei meccanismi di instabilità genomica associata alle patologie da espansione di sequenze ripetute, quali SLA/FTD con il gene *C9orf72* e la malattia di Huntington, per spiegare il fenomeno dell'anticipazione genetica e del mosaicismismo somatico intra- e inter-tissutale. Il nostro gruppo ha avuto il compito di contribuire al progetto mediante la generazione di linee iPSC di pazienti con mutazione *C9orf72* e abbiamo generato 5 nuove linee di pazienti appartenenti alla stessa famiglia e con un diverso numero di espansioni patologiche, utilizzate dal Partner di progetto Georg Hasse (Francia) per generare organoidi cerebrali e studiare così l'instabilità genomica durante il processo di differenziamento neuronale mediante sequenziamento del DNA di terza generazione, quale l'Otical genome mapping (Bionano). Tale tecnica è stata usata anche su DNA genomico da sangue di pazienti con espansione nel gene *C9orf72* per valutare se possa essere una metodica alternativa e migliorare la risoluzione analitica ottenuta mediante Southern blot, attualmente utilizzato solo per ricerca e poco affidabile per l'alto grado di mosaicismismo somatico presente nel sangue. I nostri dati indicano che l'Otical genome mapping è in grado di rilevare in modo abbastanza consistente la presenza di espansioni *C9orf72* di vario grado in comparazione col Southern blot. In collaborazione col Partner Lorant Szekvolgyi (Ungheria) abbiamo invece generato cellule staminali neurali (NCS) dalle linee iPSC mutate *C9orf72*, al fine di definire possibili danni al DNA mediante mappatura di R-loops, ibridi DNA:RNA che si formano in condizioni di alterazioni-instabilità genomiche, utilizzando la tecnica di DRIP-seq. I dati di sequenziamento e mappatura degli R-loops sono ora all'analisi bioinformatica.

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 Ricerca Finalizzata AUTOPHALS, Ministero della Salute, PI Prof. V. Silani e Prof.ssa Antonia Ratti)

Nell'ambito di questo progetto abbiamo saggiato la risposta allo stress cronico da Arsenite in diversi modelli *in vitro* di malattia, quali cellule di neuroblastoma umano, fibroblasti primari di pazienti SLA e cellule iPSC da essi riprogrammate dalle quali sono stati ottenuti per differenziamento i motoneuroni (iPSC-MN). In tutti i nostri modelli il trattamento con Arsenite cronica ha riprodotto una condizione patologica di TDP-43-proteinopatia con sia *gain-of-function* della proteina TDP-43 mislocalizzata nel citoplasma sotto forma di granuli da stress (SG) o di proteina fosforilata aggregata, sia *loss-of-function* di TDP-43 per quanto riguarda la sua attività di splicing dovuta ad una sua deplezione dal nucleo. Tali modelli di malattia sono stati generati per testare approcci terapeutici con molecole già conosciute avere un'azione sull'autofagia e/o sulla senescenza, quali Rapamicina, Litio e Metformina. Poiché i nostri dati in cellule di neuroblastoma umano hanno mostrato un effetto solo della Rapamicina nel recuperare la mislocalizzazione citoplasmatica di TDP-43 e la sua attività di splicing su geni target selezionati (*POLDIP3* e *UNC13A*), abbiamo validato l'efficacia della Rapamicina anche nei fibroblasti e in iPSC-MN da pazienti SLA con mutazione del gene *C9ORF72*. Anche in questi modelli, trattati con Arsenite e Rapamicina, abbiamo osservato un parziale recupero della mislocalizzazione citoplasmatica e dell'attività di splicing di TDP-43. Abbiamo, quindi, voluto saggiare la Rapamicina anche in modelli *in vitro* 3D più complessi, quali gli organoidi cerebrali differenziati da iPSC (iPSC-organoids) sempre da paziente, per tenere in considerazione anche l'eventuale contributo di meccanismi *non-cell autonomous* da cellule gliali. Abbiamo confermato che il trattamento con Arsenite è in grado di determinare una *loss-of-function* dell'attività di splicing di TDP-43 e che la Rapamicina è in grado di recuperare parzialmente questa funzione nucleare per il target neuronale *UNC13A*. I dati ottenuti sono stati ora sottomessi a rivista.

Abbiamo, quindi, iniziato a saggiare la risposta dei motoneuroni umani derivati da iPSC ad altri tipi di insulto, quale il trattamento con CSF di pazienti SLA, per valutare il possibile contributo citotossico di tale liquido biologico nella propagazione della malattia. Abbiamo utilizzato i³-iPSC

wild-type, ossia linee geneticamente modificate ed inducibili per l'espressione della cassetta NIL che permette, mediante attivazione con Doxyciclina, il differenziamento a motoneuroni spinali in 20 giorni. Tale modello i³-MN è molto riproducibile, facilmente differenziabile e, quindi, adatto ad essere utilizzato per il nostro screening con CSF da diversi pazienti. Per quanto riguarda le tipologie di CSF da somministrare, abbiamo scelto 5 campioni per ciascuno dei diversi genotipi associati alla SLA, quali mutazione in *C9ORF72*, presenza del fattore di rischio SNP nel gene *UNC13A* e controparte con allele maggiore, oltre a 5 CSF da controlli senza malattie neurodegenerative. Come controllo positivo d'insulto ossidativo abbiamo usato Arsenite come descritto negli esperimenti sopra per un totale di 5 replicati biologici/condizione sperimentale (n totale=30). In questi i³-MN stiamo attualmente valutando vari parametri biologici, quali la vitalità, la formazione di aggregati proteici, l'accumulo di P62 legata all'autofagia, e la degenerazione neuritica. Sono attualmente in corso le analisi d'immagine.

PERIPHERAL NERVOUS SYSTEM INVOLVEMENT IN AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS: FROM DIAGNOSIS TO DISEASE UNDERSTANDING (Progetto Ricerca Finalizzata PNALS, Ministero della Salute, PI Prof.ssa Antonia Ratti)

Per studiare il ruolo delle cellule di Schwann (SC) nella SLA e definire, quindi, se anche tale popolazione cellulare contribuisce all'eziopatogenesi della malattia con meccanismi non cell-autonomous abbiamo ottenuto, in collaborazione col Partner di progetto Angelo Quattrini (Ospedale San Raffaele), SC a partire da iPSC da noi generate da pazienti SLA con mutazioni nel gene *TARDBP*, avendo anche il corrispettivo modello murino transgenico per ulteriori comparazioni in vivo. Le SC sono state generate seguendo protocolli già pubblicati ma da noi ottimizzati e messe in co-cultura con MNs, sempre ottenuti da iPSC, in device con microcamerette messe a punto dal Partner. Come controlli abbiamo utilizzato iPSC wild-type isogeniche da noi convertite mediante gene editing con CRISPR/Cas9. Sono state utilizzate diverse combinazioni tra cellule SC e MN mutate *TARDBP* e wild-type isogeniche al fine di valutare l'effetto specifico delle due popolazioni. I dati mostrano che le SC mutate hanno un effetto negativo sulla crescita assonale dei MN wild-type e, viceversa, anche i MN mutate hanno effetto negativo sulla crescita e organizzazione delle SC wild-type, confermando che entrambi i tipi cellulari hanno un ruolo specifico nella patogenesi della malattia. Stiamo ora inserendo un terzo tipo cellulare nella co-cultura, ossia cellule muscolari primarie ottenute da individui sani. Obiettivo sarà anche quello di generare cellule muscolari dalle stesse linee iPSC *TARDBP* mutate e wild-type isogeniche per testare varie combinazioni di co-cultura, sfruttando sempre i device customizzati dal Partner.

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

L'IRCCS Istituto Auxologico Italiano ha proseguito nel 2023 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.

Il Centro partecipa allo studio fornendo pazienti affetti da forme sporadiche e familiari/genetiche di SLA e di FTD (variante comportamentale o bvFTD, afasia primaria progressiva-variante semantica o svPPA e afasia primaria progressiva-variante non-fluente o nvPPA). I soggetti vengono sottoposti a visite ogni 6 mesi per un totale di 5 visite (ultimo follow-up a 2 anni dal reclutamento nello studio). 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, nella maggior parte dei casi, viene anche effettuata una puntura lombare, finalizzata tra l'altro, nel caso dei pazienti con FTD in corso di definizione diagnostica, alla quantificazione dei biomarcatori liquorali di neurodegenerazione/malattia di Alzheimer (A-beta 1-42, A-beta 1-40, tau totale, tau fosforilata).

NEUROIMAGING/RETE NEUROIRCCS

Nel corso del 2023 il Dipartimento di Neurologia ha proseguito la collaborazione nell'ambito della Rete Neuroimaging – RIN. In particolare, è proseguito il progetto SPIN ("Dalla stratificazione all'imaging personalizzato in Neurologia/Neuroscienze: sviluppare la sinergia tra RM ad alto campo e RM a campo ultra alto nella rete RIN"), che ha come obiettivo l'ottimizzazione dei processi di controllo qualità per quanto concerne dell'utilizzo del QSM in ambito clinico, nonché l'implementazione della metodica di QSM in ambito preclinico.

Nel contesto di questa collaborazione multicentrica, che coinvolge 30 IRCCS sono stati pubblicati i seguenti studi: "Normative values of the topological metrics of the structural connectome: A multi-site reproducibility study across the Italian Neuroscience network e "Quality assessment, variability and reproducibility of anatomical measurements derived from T1-weighted brain imaging: the RIN–Neuroimaging Network case study". "

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

Nel corso del 2023 è proseguito 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", P.I. Dott.ssa C. Morelli, 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 tra pattern dei depositi paramagnetici e fenotipo di malattia. Sono stati

arruolati nello studio complessivamente più di 150 soggetti (pazienti affetti da malattia del motoneurone e soggetti di controllo). L'analisi dei dati ha permesso di identificare un promettente marker radiologico per supportare la diagnosi di Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA), mediante la valutazione quantitativa dell'ipointensità della corteccia motoria primaria nella sequenza SWI, nonché di individuare un potenziale biomarker quantitativo di coinvolgimento del I motoneurone nella SLA. Nel 2023 è stato pubblicato il lavoro "Amyotrophic lateral sclerosis with upper motor neuron predominance: diagnostic accuracy of qualitative and quantitative susceptibility metrics in the precentral gyrus" collaborazione con la Neuroradiologia dell'Ospedale Policlinico di Milano.

AVANZAMENTI IN MATERIA DI SCREENING COGNITIVO E COMPORTAMENTALE NEGLI EXTRAPIRAMIDALISMI

Nell'anno 2023, il Centro si è visto coinvolto, sia in qualità di capofila che in qualità di collaboratore principale con l'Università degli Studi della Campania "Luigi Vanvitelli", nella pubblicazione di articoli approfondenti il tema delle proprietà clinimetriche e dell'utilizzabilità clinica di alcuni strumenti di screening cognitivo e comportamentale in pazienti affetti da malattie neurodegenerative del sistema extrapiramidale – e, in particolare, in pazienti (pz.) con malattia di Parkinson (MdP), malattia di Huntington (MdH) e distonie focali idiopatiche dell'adulto (DFIA). Nella fattispecie, tre articoli si sono focalizzati sullo studio del Montreal Cognitive Assessment (MoCA) in pz. con MdP (D'Iorio et al., *Aging Clin Exp Res* 2023), MdH (Aiello et al., *Neurol Sci* 2023a) e DFIA (D'Iorio et al., *J Neural Transmiss* 2023), dimostrando, in tutte queste popolazioni cliniche, la solidità psicometrica e diagnostica del MoCA, nonché derivandone cut-off malattia-specifici da poter impiegare in ambito clinico e di ricerca. Lo studio delle proprietà psicometriche del MoCA nella MdP è inoltre stata approfondita in un ulteriore articolo (Aiello et al., *Neurodegener Dis*), che ha avuto come focus lo studio della validità ecologica dello strumento in tale popolazione. Tale studio ha dimostrato come il MoCA fosse significativamente associato ad una misura malattia-specifica di indipendenza funzionale, ciò rafforzandone la raccomandazione di impiego clinico. Un ulteriore studio (Aiello et al., *J Neural Transmiss* 2023) si è poi focalizzato sull'utilizzabilità clinica della Frontal Assessment Battery (FAB) – gold-standard per la valutazione di primo livello delle disfunzioni esecutive – nella MdP: tale pubblicazione non solo riporta un'approfondita indagine trasversale delle proprietà clinimetriche (ivi inclusa la derivazione di un cut-off malattia-specifico) e dell'utilizzabilità clinica della FAB nella MdP, ma, rilevantemente, ha anche esaminato l'impiegabilità longitudinale dello strumento. In particolare, tale articolo ha fornito a clinici e ricercatori le metriche per il computo del *reliable change index* per la FAB nella MdP – ossia, delle soglie per rilevare cambiamenti clinicamente significativi al test in questione nell'ambito dei monitoraggi longitudinali. Infine, uno studio collaborativo a carattere internazionale si è focalizzato sulla valutazione delle proprietà psicometriche, diagnostiche e di utilizzabilità clinica della Beck Depression Inventory (BDI) – un gold-standard per lo *screening* dei sintomi depressivi – nella MdP nella popolazione Spagnola (D'Iorio et al., *Arch Clin Neuropsychol* 2023).

AVANZAMENTI IN MATERIA DI SEMEIOLOGIA E DIAGNOSTICA NEUROPSICOLOGICA NELLA SCLEROSI LATERALE AMIOTROFICA

Nel corso dell'anno 2023, il Centro ha proseguito la sua intensa attività di ricerca concernente l'ambito della neuropsicologia clinica nei pz. con sclerosi laterale amiotrofica (SLA). Un primo studio, coinvolgente un'ampia casistica multicentrica di pz. SLA (Aiello et al., *J Neurol* 2023), si è focalizzato sulla derivazione delle norme di conversione tra i due *screener* malattia-specifici considerati come gold-standard a livello internazionale – ossia, l'ALS Cognitive Behavioral Screen (ALS-CBS) e l'Edinburgh Cognitive and Behavioral ALS Screen (ECAS). In particolare, tale articolo riporta una tabella di facile comprensione che permette la conversione del punteggio ottenuto all'ALS-CBS – test richiedente circa 5-10 minuti di somministrazione – e l'ECAS – che invece richiede dai 15 ai 25 minuti. Tali dati saranno pertanto di ampia rilevanza per ragioni sia cliniche che sperimentali. A livello clinico, le suddette norme permetteranno di evitare l'eterogeneità inter-centro nell'impiego dell'uno o dell'altro test, specialmente in ottica di monitoraggio longitudinale, nonché

di produrre la stima del punteggio ad un test richiedente fino a 25 minuti tramite la somministrazione di un altro che richiede, a questo fine, meno della metà di tale tempistica. Inoltre, a livello di ricerca clinica, tali norme di conversione potranno risultare utili nell'aggregazione e ri-analisi di database – anche multi-centrici – aventi impiegato uno dei due strumenti. Un secondo articolo (Poletti et al., *Amyotrophic Lateral Scler Frontotemporal Degener*) si è poi focalizzato sulla derivazione dei cut-off a livello dei singoli item per la versione Italiana dell'ECAS. Tale studio, che ha preso in considerazione il campione normativo dell'originaria standardizzazione ad opera del Centro e pubblicata nel 2016, ha permesso pertanto che i clinici e ricercatori Italiani dispongano di valori normativi non solo per i totali, i sub-totali e i punteggi a livello di sotto-dominio dell'ECAS, ma anche delle sue singole prove. Il suddetto lavoro, pertanto, permetterà un utilizzo ancor più approfondito della batteria, permettendo peraltro una classificazione fenotipica dei pz. SLA fedele ai criteri di Strong revisionati nel 2017. Un ulteriore studio ha avuto come focus l'indagine clinimetrica e di utilizzabilità clinica di un test di secondo livello per la valutazione della cognizione sociale, ossia lo Story-Based Empathy Task (SET). Tale articolo (Aiello et al., *Neurol Sci* 2023b) ha evidenziato come soltanto uno specifico sub-test del SET, ossia quello valutante le capacità di elaborazione dell'empatia, risulta rappresentare un adeguato strumento di valutazione delle abilità di cognizione sociale nei pz. SLA. Per tale sotto-prova, è stato pertanto proposto un cut-off malattia specifico di auspicabile impiego in ambito clinico e sperimentale. Per quanto invece concerne le indagini semeiotico-neuropsicologiche nei pz. SLA, sono stati pubblicati tre articoli attinenti alle seguenti tematiche: 1) la relazione tra coinvolgimento bulbare e caratteristiche cognitive (Aiello et al., *Front Aging Neurosci* 2023); 2) l'associazione tra il profilo neuropsicologico e l'indipendenza funzionale (Aiello et al., *Neurol Sci* 2023c); 3) i correlati cognitivo-comportamentali dei processi di pensiero controfattuale (Poletti et al., *Front Psychol* 2023). Nel primo di tali studi (Aiello et al., *Front Aging Neurosci*) è stata indagata approfonditamente, in una coorte di circa 350 pz. SLA, l'associazione tra i deficit cognitivi testimoniati dall'ECAS e le caratteristiche bulbari derivate dalla storia clinica e dall'apposita sezione dell'ALS Functional Rating Scale-Revised (ALSFRS-R) – in particolare, presenza all'esordio e al momento della valutazione cognitiva, gravità, rapidità di progressione e presenza di disartria –, covariando al contempo per le principali variabili confondenti di natura motorio-funzionale (*i.e.*, coinvolgimento spinale e respiratorio, durata e stadiazione di malattia). Le analisi hanno rivelato che la presenza di segni bulbari al momento della valutazione risultavano predittivi di disfunzione esecutiva, e che la loro gravità fosse associata alla presenza di deficit mnesici. Tale studio ha pertanto permesso di chiarificare quali aspetti del coinvolgimento bulbare fosse associati al fenotipo cognitivo, informando pertanto la pratica clinica in tal senso. Nel secondo dei suddetti studi (Aiello et al., *Neurol Sci* 2023c) è stata indagato, mediante modelli multivariati, il contributo degli aspetti cognitivo-comportamentali – al netto di quelli motorio-funzionali – nei riguardi delle autonomie nella vita quotidiana (valutate tramite le scale Activities of Daily Living – ADL – e Instrumental Activities of Daily Living – IADL). Lo studio ha permesso di determinare come, oltre alle note variabili relative al coinvolgimento motorio-funzionale, anche alcuni aspetti neuropsicologici fossero associati ad un minor grado di autonomia quotidiana: in particolare, deficit linguistici sono risultati associarsi a punteggi inferiori alla scala IADL (*i.e.*, autonomie strumentali), mentre la presenza di apatia – testimoniata dalla Dimensional Apathy Scale – a punteggi inferiori alla scala ADL (*i.e.*, autonomie di base). Il terzo degli studi sopraelencati (Poletti et al., *Front Psychol* 2023) ha infine avuto come oggetto l'indagine del pensiero controfattuale – definito come la capacità umana di simulare mentalmente conclusioni alternative ad eventi già successi. I ricercatori del Centro hanno infatti determinato, mediante studi precedenti, che tale capacità, che risulta connotarsi da un chiaro valore adattivo, può risultare deficitaria in altre patologie cerebrali che presentano un coinvolgimento cognitivo. Concordemente, lo studio ha rivelato come i pz. SLA offrissero prestazioni significativamente inferiori ai soggetti di controllo a dei compiti ingaggianti il pensiero controfattuale; aggiuntivamente, sono state osservate correlazioni significative tra le misure di pensiero controfattuale e i subtest di fluenza verbale e memoria all'ECAS. Tuttavia, le misure controfattuali non si sono mostrate utili a differenziare i pz. con ECAS nella norma vs. deficitario –

ciò suggerendo la necessità di ulteriori studi sull'argomento per determinare l'eventuale rilevanza clinica di tale capacità nella popolazione SLA.

ULTERIORI STUDI COLLABORATIVI IN AMBITO NEUROPSICOLOGICO

Il Centro, durante l'anno 2023, ha continuato a coltivare la sua fitta rete di collaborazione con altri gruppi del panorama Italiano coinvolti in attività di ricerca in ambito neuropsicologico. Con riferimento alla Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, il Centro ha contribuito alla pubblicazione di due articoli di rilievo clinico: il primo, rappresentato da una revisione sistematica della letteratura concernente il ruolo delle aspettative dei pz. con MdP rispetto agli outcome degli interventi di *deep brain stimulation* (Mameli et al., *J Neurol* 2023); il secondo, rappresentato da uno studio volto ad indagare l'esperienza dei pz. affetti da malattie dementigene e dei loro caregiver rispetto all'erogazione di consulti neurologici in telemedicina. In collaborazione con la suddetta struttura, è stato inoltre pubblicato un articolo di carattere semeiotico relativo ai pz. con MdP (Cocuzza et al., *Neurodegener Dis* 2023), focalizzato sull'indagine delle strategie di richiamo mnesico in tale popolazione. Infine, in collaborazione con l'Università di Pavia, è stata pubblicata la standardizzazione di un nuovo test di screening per i deficit di attenzione selettiva – il Single-Matrix Digit Cancellation Test (SMDCT). In tal articolo (Pasotti et al., *Cerebrovasc Dis* 2023), non solo sono stati forniti i dati normativi per la popolazione Italiana, ma sono state indagate ulteriormente le proprietà clinimetriche dell'SMDCT in un'ampia casistica di pz. affetti da ictus cerebrali lateralizzato a destra e a sinistra.

ISTITUTO VIRTUALE PARKINSON e PROGETTO ParkNET

Nell'ambito dell'Istituto Virtuale l'Istituto Auxologico Italiano contribuisce attivamente a fornire la propria casistica di pazienti affetti da Malattia di Parkinson per screening genetico in relazione in particolare al gene *GBA*. Infatti dei 59 pazienti analizzati con pannello, 2 sono risultati mutati per il gene *GBA*. Obiettivo della collaborazione è quello di definire un protocollo ottimizzato da condividere tra i diversi istituti e procedere ad una attenta caratterizzazione clinica dei pazienti mutati contribuendo a fornire una casistica nazionale attentamente studiata. I pazienti sono registrati nel RedCap locale per poi essere raccolti su CBIM.

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. Una prima analisi dei dati ha permesso di identificare alterazioni della funzione deglutitoria già nelle primissime fasi di malattia e di dimostrare una buona correlazione con alcuni aspetti fenotipici della malattia (Schindler

A. et al., 2020). Successive analisi hanno permesso di identificare la correlazione tra disfagia e rischio di malnutrizione in HD (Pizzorni N. et al. 2022). Ulteriori studi sono in corso per la valutazione longitudinale del disturbo disfagico in HD.

CENTRO TRIAL

Nel 2023 è stata rivolta particolare attenzione all'ulteriore sviluppo del Centro Trial volto al trattamento sperimentale con nuovi farmaci per rallentare il decorso di svariate malattie neurodegenerative, in particolare, della Sclerosi Laterale Amiotrofica. Presso il Centro, diretto dal Prof. V. Silani, vengono concluse attività diagnostiche (EMG e Potenziali Evocati), terapeutiche (dispensazione di Riluzolo e trattamenti sperimentali sia farmacologici, che non, come nel caso dell'elettroceutica che si pone l'obiettivo di modulare l'attività della corteccia cerebrale mediante magneti ad alto campo), e di ricerca, sia clinica che di base. L'attività comprende un servizio ambulatoriale di II° livello, con possibilità di eseguire tutti gli accertamenti clinici e strumentali necessari, e la successiva attivazione dei protocolli sperimentali. Nel corso del 2023, sono stati condotti trial clinici di Fase II e III sia a livello nazionale che internazionale (europeo e globale) con svariati protocolli terapeutici. Nel contesto del Centro Trial vengono effettuate inoltre le somministrazioni intratecali di Tofersen, un oligonucleotide antisense sviluppato e commercializzato da Biogen per Pazienti affetti da forme di SLA legate ad una mutazione nel gene SOD1, mediante il programma di accesso anticipato al farmaco (EAP). Il Centro è stato inoltre tra i primi 3 arruolatori a livello globale per il trial Phoenix, trial di fase III che si poneva di dimostrare l'efficacia del farmaco Relyvrio (sodio-fenilbutirrato ed acido tauroursodesossicolico). Sono stati inoltre effettuati i trial farmacologici con edavarone orale promossi da Mitsubishi tanabe e Ferrer. Nel contempo è proseguito il supporto ai Pazienti arruolati in passato nei trial eseguiti negli anni precedenti, tramite gli OLE (Open Label Extension) offrendo agli stessi il farmaco in studio nella sperimentazione fino alla Sua eventuale approvazione da parte delle agenzie regolatorie. Tali protocolli hanno offerto la possibilità ai nostri Pazienti di partecipare allo studio di terapie nuove ed innovative. Il Centro SLA è diventato negli anni un Centro di riferimento con un'esperienza consolidata nell'ambito della ricerca scientifica, con pazienti afferenti da vari ospedali del Paese per partecipare ai numerosi Trial nazionali ed internazionali. Particolare attenzione è stata rivolta allo sviluppo di tecnologie alternative e da remoto per mantenere il rapporto ed il monitoraggio dei pazienti domiciliati. L'attività Trial nel 2023 si è ampliata andando ad inserirsi anche nel mondo della terapia delle Cefalee ed in particolare dell'emicrania, partecipando a studi internazionali per il trattamento della stessa con innovativi farmaci (anticorpi anti-CGRP e gepanti) per il controllo di invalidità e dolore da essa generate (Studi PEARL, TRIUMPH) e device terapeutici (PM010 - Chordate).

L' ATTIVITÀ DELL' IRCCS ISTITUTO AUXOLOGICO ITALIANO SI È ARTICOLATA NEL 2023 CON I SEGUENTI CENTRI:

CENTRO SCLEROSI LATERALE AMIOTROFICA (SLA)

Nell'anno 2023, oltre 300 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 lenght 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);
- conduzione di trial terapeutici per la Sclerosi Laterale Amiotrofica

L' IRCCS Istituto Auxologico Italiano 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. L' IRCCS Istituto Auxologico Italiano 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 e dirige il Centro ERN EURO-NMD dedicato alla SLA ed altre malattie del motoneurone.

CENTRO MALATTIA di PARKINSON E DISORDINI DEL MOVIMENTO

Nel corso dell'anno 2023, oltre 500 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.

L' IRCCS Istituto Auxologico Italiano offre la possibilità di accedere ad Ambulatorio di II livello in diverse sedi dell'Istituto Auxologico (Ospedale San Luca, poliambulatorio Procaccini, Poliambulatorio di Pioltello e di Meda) e di accedere a Day Hospital multispecialistico (Sede Ospedale San Luca).

Nel corso del 2023 è inoltre continuato il reclutamento di pazienti per lo studio di Validazione CASANOVA-PD (Validazione di una strumentazione ergonomica e superleggera per la misura quantitativa ed oggettiva del movimento degli arti superiori ed inferiori e della marcia nella malattia di Parkinson: studio trasversale, controllato, in aperto, pilota) che vede come promotore l'Istituto di BioRobotica, Scuola Superiore Sant'Anna e U.O. di Neurologia, Ospedale Apuane; AUSL Toscana Nord Ovest. I dati preliminari ottenuti sono in corso di pubblicazione.

Dal 2005 è presente un Centro dedicato alla Malattia di Huntington con creazione di una équipe plurispecialistica formata da neurologi, psichiatri, genetisti, 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 2023 sono state seguite varie famiglie affette da Malattia di Huntington e seguiti dieci 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 (Prof.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 CEFALEE

Il Centro Cefalee dell'Istituto Auxologico Italiano IRCCS, nell'anno 2023 ha ulteriormente incrementato l'attività clinica con l'apertura di due ambulatori di II livello dedicati esclusivamente agli adolescenti e alle donne in gravidanza.

L'erogazione costante di terapie selettive e specifiche (anticorpi anti CGRP ed infiltrazioni di tossina botulinica) è stata assicurata tramite l'attivazione di spazi ambulatoriali settimanali.

L'attività scientifica è proseguita con la partecipazione a 3 trial clinici internazionali e al progetto del Registro Nazionale delle Cefalee. Nel 2024 è previsto il coinvolgimento del Centro in altri 2 trial clinici.

L'attività del Centro Cefalee si articola nel modo seguente:

ATTIVITA' CLINICA

- 1) Ambulatori Cefalea II livello
- 2) Ambulatori prescrizione terapia con anticorpi monoclonali
- 3) Ambulatori somministrazione tossina botulinica
- 4) Macroattività Ambulatoriale Complessa per trattamenti di disassuefazione in pazienti affetti da emicrania cronica e da cefalea da abuso di analgesici

OFFERTA TERAPEUTICA

- 1) Visita ambulatoriale per cefalea
- 2) Visita ambulatoriale specifica per cefalea negli adolescenti e nelle pazienti in gravidanza
- 3) Terapia con anticorpi monoclonali anti CGRP
- 4) Terapia con infiltrazioni di tossina botulinica
- 5) Tecniche di rilassamento muscolare e Mindfulness
- 6) Valutazione dietologica e Dieta Chetogenica
- 7) Agopuntura
- 8) Trattamento di disassuefazione nei casi di Cefalea da iperuso di analgesici
- 9) Indirizzo verso trattamenti di FKT/blocco farmacologico del nervo occipitale/neuromodulazione non invasiva

Anno 2023

Numero pazienti ambulatoriali: 2000

Numero ambulatori Cefalea: 8 ambulatori/settimana

Tipologia ambulatori Cefalea: 3 (adulti, adolescenti, gravide)

Numero ambulatori prescrizione anticorpi monoclonali: 4/settimana

Numero pazienti in trattamento con anticorpi monoclonali: 240

Numero ambulatori tossina botulinica: 4/settimana

Numero pazienti in trattamento con tossina botulinica: 150

Trial Cefalee: 2 trial in chiusura, 3 programmati per inizio 2024, attuale partecipazione a Registro Nazionale delle Cefalee

CENTRO DI MEDICINA DEL SONNO

È continuata nel corso del 2023 l'attività del Centro di Medicina del Sonno presso l'IRCCS Istituto Auxologico Italiano, Ospedale San Luca, diretto dalla Prof.ssa Lombardi.

Nello 2023 sono state eseguite circa oltre 1.000 visite ambulatoriali e polisonnografie portatili, 200 video polisonnografie in laboratorio di medicina del sonno, 60 monitoraggi polisunnografici 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

PRODUZIONE SCIENTIFICA 2023

Cappelletti G, Colombrita C, Limanaqi F, Invernizzi S, Garziano M, Vanetti C, Moscheni C, Santangelo S, Zecchini S, Trabattoni D, Silani V, Clerici M, Ratti A, Biasin M.

Human motor neurons derived from induced pluripotent stem cells are susceptible to SARS-CoV-2 infection.

Front Cell Neurosci. 2023 Dec 5;17:1285836. doi: 10.3389/fncel.2023.1285836. eCollection 2023

Poletti B, Aiello EN, Tagini S, Solca F, Torre S, Colombo E, Maranzano A, Bonetti R, Schevegher F, Morelli C, Doretto A, Verde F, Barbieri S, Mameli F, Priori A, Ferrucci R, Silani V, Cherubini P, Pravettoni G, Ticozzi N.

An exploratory study on counterfactual thinking in amyotrophic lateral sclerosis.

Front Psychol. 2023 Dec 4;14:1281976. doi: 10.3389/fpsyg.2023.1281976. eCollection 2023

Ludolph AC, Grandjean H, Reviers E, De Micheli V, Bianchi C, Cardosi L, Russ H, Silani V.
The preferences of people with amyotrophic lateral sclerosis on riluzole treatment in Europe.

Sci Rep. 2023 Dec 15;13(1):22497. doi: 10.1038/s41598-023-49424-3

Peverelli S, Brusati A, Casiraghi V, Sorce MN, Invernizzi S, Santangelo S, Morelli C, Verde F, Silani V, Ticozzi N, Ratti A.

Analysis of normal C9orf72 repeat length as possible disease modifier in amyotrophic lateral sclerosis.

Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener. 2023 Nov 1:1-4. doi: 10.1080/21678421.2023.2273965. Online ahead of print.

Brusati A, Peverelli S, Calzari L, Tiloca C, Casiraghi V, Sorce MN, Invernizzi S, Carbone E, Cavagnola R, Verde F, Silani V, Ticozzi N, Ratti A, Gentilini D.

Exploring epigenetic drift and rare epivariations in amyotrophic lateral sclerosis by epigenome-wide association study.

Front Aging Neurosci. 2023 Nov 27;15:1272135. doi: 10.3389/fnagi.2023.1272135. eCollection 2023

Lombardo FL, Spila Alegiani S, Mayer F, Cipriani M, Lo Giudice M, Ludolph AC, McDermott CJ, Corcia P, Van Damme P, Van den Berg LH, Hardiman O, Nicolini G, Vanacore N, Dickie B, Albanese A, Puopolo M; TUDCA-ALS Study Group.

A randomized double-blind clinical trial on safety and efficacy of tauroursodeoxycholic acid (TUDCA) as add-on treatment in patients affected by amyotrophic lateral sclerosis (ALS): the statistical analysis plan of TUDCA-ALS trial.

Trials. 2023 Dec 5;24(1):792. doi: 10.1186/s13063-023-07638-w

D'Iorio A, Maggi G, Guida P, Aiello EN, Poletti B, Silani V, Ticozzi N, Santangelo G, Obeso I.

Early Detection of Depression in Parkinson's Disease: Psychometrics and Diagnostics of the Spanish Version of the Beck Depression Inventory.

Arch Clin Neuropsychol. 2023 Nov 16:acad087. doi: 10.1093/arclin/acad087. Online ahead of print

Kacem I, Sghaier I, Peverelli S, Abida Y, Ben Brahim H, Ratti A, Nasri A, Ticozzi N, Silani V, Gouider R.

Optineurin in patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis associated to atypical Parkinsonism in Tunisian population.

Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener. 2023 Oct 30:1-7. doi: 10.1080/21678421.2023.2273961. Online ahead of print

Gentile F, Maranzano A, Verde F, Bettoni V, Colombo E, Doretti A, Olivero M, Scheveger F, Colombrita C, Bulgarelli I, Spinelli EG, Torresani E, Messina S, Maderna L, Agosta F, Morelli C, Filippi M, Silani V, Ticozzi N.

The value of routine blood work-up in clinical stratification and prognosis of patients with amyotrophic lateral sclerosis.

J Neurol. 2023 Oct 6. doi: 10.1007/s00415-023-12015-3. Online ahead of print

Aiello EN, Solca F, Torre S, Gentile F, Scheveger F, Olivero M, Colombo E, Maranzano A, Manzoni M, Morelli C, Doretti A, Verde F, Silani V, Ticozzi N, Poletti B.

Frontotemporal-spectrum disorders and functional independence in non-demented ALS patients.

Neurol Sci. 2023 Sep 29. doi: 10.1007/s10072-023-07074-3. Online ahead of print

Aiello EN, Solca F, Torre S, Lafronza A, Maranzano A, Bonetti R, Scheveger F, Maffi S, Ceccarelli C, Scocchia M, Casella M, Verde F, Migliore S, Silani V, Ticozzi N, Squitieri F, Ciammola A, Poletti B.

Validity, diagnostics and feasibility of the Italian version of the Montreal Cognitive Assessment (MoCA) in Huntington's disease.

Neurol Sci. 2023 Sep 28. doi: 10.1007/s10072-023-07070-7. Online ahead of print

Mameli F, Zirone E, Girlando R, Scagliotti E, Rigamonti G, Aiello EN, Poletti B, Ferrucci R, Ticozzi N, Silani V, Locatelli M, Barbieri S, Ruggiero F.

Role of expectations in clinical outcomes after deep brain stimulation in patients with Parkinson's disease: a systematic review.

J Neurol. 2023 Nov;270(11):5274-5287. doi: 10.1007/s00415-023-11898-6. Epub 2023 Jul 30

Aiello EN, D'Iorio A, Solca F, Torre S, Colombo E, Maranzano A, De Lorenzo A, Patisso V, Treddenti M, Morelli C, Doretti A, Maderna L, Verde F, Ferrucci R, Barbieri S, Ruggiero F, Priori A, Silani V, Ticozzi N, Santangelo G, Ciammola A, Poletti B.

Ecological Validity of the Montreal Cognitive Assessment in Non-Demented Parkinson's Disease Patients.

Neurodegener Dis. 2022;22(3-4):159-163. doi: 10.1159/000532115. Epub 2023 Jul 21

D'Iorio A, Aiello EN, Amboni M, Vitale C, Verde F, Silani V, Ticozzi N, Ciammola A, Poletti B, Santangelo G. *Validity and diagnostics of the Italian version of the Montreal Cognitive Assessment (MoCA) in non-demented Parkinson's disease patients.*

Aging Clin Exp Res. 2023 Oct;35(10):2157-2163. doi: 10.1007/s40520-023-02493-w. Epub 2023 Jul 22

Fortunato F, Bianchi F, Ricci G, Torri F, Gualandi F, Neri M, Farnè M, Giannini F, Malandrini A, Volpi N, Lopercolo D, Silani V, Ticozzi N, Verde F, Pareyson D, Fenu S, Bonanno S, Nigro V, Peduto C, D'Ambrosio P, Zeuli R, Zanolini M, Picillo E, Servadei S, Primiano G, Sancricca C, Sciacco M, Brusa R, Filosto M, Cotti Piccinelli S, Pegoraro E, Mongini T, Solero L, Gadaleta G, Brusa C, Minetti C, Bruno C, Panicucci C, Sansone VA, Lunetta C, Zanolini A, Toscano A, Pugliese A, Nicocia G, Bertini E, Catteruccia M, Diodato D, Atalaia A, Evangelista T, Siciliano G, Ferlini A.

Digital health and Clinical Patient Management System (CPMS) platform utility for data sharing of neuromuscular patients: the Italian EURO-NMD experience.

Orphanet J Rare Dis. 2023 Jul 21;18(1):196. doi: 10.1186/s13023-023-02776-5

Beretta S, Cristillo V, Camera G, Morotti Colleoni C, Pellitteri G, Viti B, Bianchi E, Gipponi S, Grimoldi M, Valente M, Guttmann S, Cotelli MS, Palumbo P, Gelosa G, Meletti S, Schenone C, Ottaviani D, Filippi M, Zini A, Basilico P, Tancredi L, Cortelli P, Braga M, De Giuli V, Servadei S, Paolicelli D, Verde F, Caproni S, Pisani A, Lo Re V, Massacesi L, Roccatagliata DV, Manganotti P, Spitaleri D, Formenti A, Piccoli M, Marino S, Polverino P, Aguglia U, Ornello R, Perego E, Siciliano G, Merlo P, Capobianco M, Pantoni L, Lugaresi A, Angelocola S, De Rosa A, Sessa M, Beghi E, Agostoni EC, Monaco S, Padovani A, Priori A, Silani V, Tedeschi G, Ferrarese C.

Incidence and Long-term Functional Outcome of Neurologic Disorders in Hospitalized Patients With COVID-19 Infected With Pre-Omicron Variants; for Neuro-COVID Italy.

Neurology. 2023 Aug 29;101(9):e892-e903. doi: 10.1212/WNL.000000000000207534. Epub 2023 Jul 6

Verde F, Milone I, Colombo E, Maranzano A, Dubini A, Colombrita C, Gentile F, Doretti A, Torre S, Messina S, Morelli C, Torresani E, Poletti B, Priori A, Maderna L, Ratti A, Silani V, Ticozzi N. *Phosphorylated tau in plasma could be a biomarker of lower motor neuron impairment in amyotrophic lateral sclerosis.*

Neurol Sci. 2023 Oct;44(10):3697-3702. doi: 10.1007/s10072-023-06916-4. Epub 2023 Jun 27

D'Iorio A, Aiello EN, Trinchillo A, Silani V, Ticozzi N, Ciammola A, Poletti B, Esposito M, Santangelo G.

Clinimetrics of the Italian version of the Montreal Cognitive Assessment (MoCA) in adult-onset idiopathic focal dystonia.

J Neural Transm (Vienna). 2023 Dec;130(12):1571-1578. doi: 10.1007/s00702-023-02663-0. Epub 2023 Jun 12

Poletti B, Aiello EN, La Tona A, Solca F, Torre S, Colombo E, Maranzano A, Morelli C, Doretti A, Verde F, Monti A, Brugnera A, Compare A, Ferrucci R, Barbieri S, Mameli F, Priori A, Pravettoni G, Silani V, Ticozzi N.

Single task-level, 2SD-based cutoffs for the Italian version of the Edinburgh Cognitive and Behavioral ALS screen (ECAS).

Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener. 2023 Jun 8:1-4. doi:10.1080/21678421.2023.2220746. Online ahead of print

Verde F, Milone I, Dubini A, Colombrita C, Perego A, Solca F, Maranzano A, Ciusani E, Poletti B, Ratti A, Torresani E, Silani V, Ticozzi N.

Influence of kidney function and CSF/serum albumin ratio on plasma A β 42 and A β 40 levels measured on a fully automated platform in patients with Alzheimer's disease.

Neurol Sci. 2023 Sep;44(9):3287-3290. doi: 10.1007/s10072-023-06882-x. Epub 2023 Jun 7

Gagliardi D, Ripellino P, Meneri M, Del Bo R, Antognozzi S, Comi GP, Gobbi C, Ratti A, Ticozzi N, Silani V, Ronchi D, Corti S.

Clinical and molecular features of patients with amyotrophic lateral sclerosis and SOD1 mutations: a monocentric study.

Front Neurol. 2023 May 17;14:1169689. doi: 10.3389/fneur.2023.1169689. eCollection 2023

Pasotti F, Aiello EN, Bollani A, Querzola M, Cozzi S, Manfrin F, Bruno S, Poletti B, Ticozzi N, Silani V, Bottini G.

The Single-Matrix Digit Cancellation Test (SMDCT), a screener for selective attention deficits: standardization in an Italian population sample and clinical usability in acute stroke patients.

Cerebrovasc Dis. 2023 Jun 1. doi: 10.1159/000531160. Online ahead of print

Guidetti M, Giannoni-Luza S, Bocci T, Pacheco-Barrios K, Bianchi AM, Parazzini M, Ionta S, Ferrucci R, Maiorana NV, Verde F, Ticozzi N, Silani V, Priori A.

Modeling Electric Fields in Transcutaneous Spinal Direct Current Stimulation: A Clinical Perspective.

Biomedicines. 2023 Apr 26;11(5):1283. doi: 10.3390/biomedicines11051283

Aiello EN, Solca F, Greco LC, Torre S, Carelli L, Morelli C, Doretti A, Colombo E, Messina S, Pain D, Radici A, Lizio A, Casiraghi J, Cerri F, Woolley S, Murphy J, Tremolizzo L, Appollonio I, Verde F, Sansone VA, Lunetta C, Silani V, Ticozzi N, Poletti B.

Equating norms between the ALS Cognitive Behavioral Screen (ALS-CBS™) and the Edinburgh Cognitive and Behavioural ALS Screen (ECAS) in non-demented ALS patients.

J Neurol. 2023 Aug;270(8):4090-4095. doi: 10.1007/s00415-023-11749-4. Epub 2023 May 5

Maranzano A, Verde F, Colombo E, Poletti B, Doretti A, Bonetti R, Gagliardi D, Meneri M, Maderna L, Messina S, Corti S, Morelli C, Silani V, Ticozzi N.

Regional spreading pattern is associated with clinical phenotype in amyotrophic lateral sclerosis.

Brain. 2023 Oct 3;146(10):4105-4116. doi: 10.1093/brain/awad129

Van Daele SH, Moisse M, van Vugt JJFA, Zwamborn RAJ, van der Spek R, van Rheenen W, Van Eijk K, Kenna K, Corcia P, Vourc'h P, Couratier P, Hardiman O, McLaughlin R, Gotkine M, Drory V, Ticozzi N, Silani V, Ratti A, de Carvalho M, Mora Pardina JS, Povedano M, Andersen PM, Weber M, Başak NA, Shaw C, Shaw PJ, Morrison KE, Landers JE, Glass JD, van Es MA, van den Berg LH, Al-Chalabi A, Veldink J, Van Damme P.

Genetic variability in sporadic amyotrophic lateral sclerosis.

Brain. 2023 Sep 1;146(9):3760-3769. doi: 10.1093/brain/awad120

Aiello EN, Solca F, Torre S, Colombo E, Maranzano A, Olivero M, Scheveger F, Morelli C, Doretti A, Verde F, Ferrucci R, Barbieri S, Mameli F, Priori A, Silani V, Ticozzi N, Poletti B.

Clinical usability of the Story-Based Empathy Task (SET) in non-demented ALS patients.

Neurol Sci. 2023 Sep;44(9):3181-3187. doi: 10.1007/s10072-023-06791-z. Epub 2023 Apr 5

Verde F, Milone I, Colombo E, Maranzano A, Solca F, Torre S, Doretti A, Gentile F, Manini A, Bonetti R, Peverelli S, Messina S, Maderna L, Morelli C, Poletti B, Ratti A, Silani V, Ticozzi N.

Phenotypic correlates of serum neurofilament light chain levels in amyotrophic lateral sclerosis.

Front Aging Neurosci. 2023 Mar 15;15:1132808. doi: 10.3389/fnagi.2023.1132808. eCollection 2023

Aiello EN, D'Orto A, Solca F, Torre S, Bonetti R, Scheveger F, Colombo E, Maranzano A, Maderna L, Morelli C, Doretto A, Amboni M, Vitale C, Verde F, Ferrucci R, Barbieri S, Zirone E, Priori A, Pravettoni G, Santangelo G, Silani V, Ticozzi N, Ciammola A, Poletti B.

Clinimetrics and feasibility of the Italian version of the Frontal Assessment Battery (FAB) in non-demented Parkinson's disease patients.

J Neural Transm (Vienna). 2023 May;130(5):687-696. doi: 10.1007/s00702-023-02624-7. Epub 2023 Mar 28

Adey BN, Cooper-Knock J, Al Khleifat A, Fogh I, van Damme P, Corcia P, Couratier P, Hardiman O, McLaughlin R, Gotkine M, Drory V, Silani V, Ticozzi N, Veldink JH, van den Berg LH, de Carvalho M, Pinto S, Mora Pardina JS, Povedano Panades M, Andersen PM, Weber M, Başak NA, Shaw CE, Shaw PJ, Morrison KE, Landers JE, Glass JD, Vourc'h P, Dobson RJB, Breen G, Al-Chalabi A, Jones AR, Iacoangeli A.

Large-scale analyses of CAV1 and CAV2 suggest their expression is higher in post-mortem ALS brain tissue and affects survival.

Front Cell Neurosci. 2023 Mar 2;17:1112405. doi: 10.3389/fncel.2023.1112405. eCollection 2023

Chen Z, Reynolds RH, Pardiñas AF, Gagliano Taliun SA, van Rheenen W, Lin K, Shatunov A, Gustavsson EK, Fogh I, Jones AR, Robberecht W, Corcia P, Chiò A, Shaw PJ, Morrison KE, Veldink JH, van den Berg LH, Shaw CE, Powell JF, Silani V, Hardy JA, Houlden H, Owen MJ, Turner MR, Ryten M, Al-Chalabi A.

The contribution of Neanderthal introgression and natural selection to neurodegenerative diseases.

Neurobiol Dis. 2023 May;180:106082. doi: 10.1016/j.nbd.2023.106082. Epub 2023 Mar 15

Reitano MR, Guidetti M, Maiorana NV, De Sandi A, Carusi F, Rosci C, Ruggiero F, Poletti B, Ticozzi N, Mameli F, Barbieri S, Silani V, Priori A, Ferrucci R.

The Effects of a New Integrated and Multidisciplinary Cognitive Rehabilitation Program Based on Mindfulness and Reminiscence Therapy in Patients with Parkinson's Disease and Mild Cognitive Impairment: A Pilot Study.

Brain Sci. 2023 Jan 25;13(2):201. doi: 10.3390/brainsci13020201

Manini A, Casiraghi V, Brusati A, Maranzano A, Gentile F, Colombo E, Bonetti R, Peverelli S, Invernizzi S, Gentilini D, Messina S, Verde F, Poletti B, Fogh I, Morelli C, Silani V, Ratti A, Ticozzi N.

Association of the risk factor UNC13A with survival and upper motor neuron involvement in amyotrophic lateral sclerosis.

Front Aging Neurosci. 2023 Feb 1;15:1067954. doi: 10.3389/fnagi.2023.1067954. eCollection 2023

Maiorana NV, Aiello EN, Poletti B, Carusi F, De Sandi A, Guidetti M, Prandin R, Marceglia S, Ticozzi N, Silani V, Priori A, Ferrucci R.

Relationship between Reaction Times and Post-COVID-19 Symptoms Assessed by a Web-Based Visual Detection Task.

Healthcare (Basel). 2023 Jan 17;11(3):284. doi: 10.3390/healthcare11030284

Aiello EN, Solca F, Greco LC, La Tona A, Torre S, Carelli L, Morelli C, Doretto A, Colombo E, Messina S, Pain D, Radici A, Lizio A, Casiraghi J, Cerri F, Brugnera A, Compare A, Woolley S, Murphy J, Tremolizzo L, Appollonio I, Verde F, Sansone VA, Lunetta C, Silani V, Ticozzi N, Poletti B.

Standardization of the Italian ALS-CBST™ Caregiver Behavioral Questionnaire.

Front Psychol. 2023 Jan 20;13:1107001. doi: 10.3389/fpsyg.2022.1107001. eCollection 2022

Aiello EN, Verde F, Solca F, Milone I, Giacomuzzi Grigoli E, Dubini A, Ratti A, Ferrucci R, Torresani E, Priori A, Ticozzi N, Silani V, Poletti B.

Lower semantic fluency scores and a phonemic-over-semantic advantage predict abnormal CSF P-tau₁₈₁ levels in Aβ + patients within the Alzheimer's disease clinical spectrum.

Neurol Sci. 2023 Jun;44(6):1979-1985. doi: 10.1007/s10072-023-06643-w. Epub 2023 Jan 27

Canu E, Castelnovo V, Rancoita PM, Leocadi M, Lamanuzzi A, Spinelli EG, Basaia S, Riva N, Poletti B, Solca F, Verde F, Ticozzi N, Silani V, Abrahams S, Filippi M, Agosta F.

Italian reference values and brain correlates of verbal fluency index - vs standard verbal fluency test - to assess executive dysfunction in ALS.

Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener. 2023 Aug;24(5-6):457-465. doi: 10.1080/21678421.2023.2167606. Epub 2023 Jan 18

Maggi G, D'Iorio A, Aiello EN, Poletti B, Ticozzi N, Silani V, Amboni M, Vitale C, Santangelo G. *Psychometrics and diagnostics of the Italian version of the Beck Depression Inventory-II (BDI-II) in Parkinson's disease.*

Neurol Sci. 2023 May;44(5):1607-1612. doi: 10.1007/s10072-023-06619-w. Epub 2023 Jan 18

Verde F, Ferrari I, Maranzano A, Ciusani E, Torre S, Milone I, Colombo E, Doretto A, Peverelli S, Ratti A, Maderna L, Poletti B, Messina S, Morelli C, Silani V, Ticozzi N.

Relationship between cerebrospinal fluid/serum albumin quotient and phenotype in amyotrophic lateral sclerosis: a retrospective study on 328 patients.

Neurol Sci. 2023 May;44(5):1679-1685. doi: 10.1007/s10072-023-06604-3. Epub 2023 Jan 17

Santangelo S, Bossolasco P, Magri S, Colombrita C, Invernizzi S, Gellera C, Nanetti L, Di Bella D, Silani V, Taroni F, Ratti A.

Generation of an iPSC line from a patient with spastic paraplegia type 10 carrying a novel mutation in KIF5A gene.

Stem Cell Res. 2023 Feb;66:103008. doi: 10.1016/j.scr.2022.103008. Epub 2022 Dec 21

Aiello EN, Greco LC, La Tona A, Solca F, Torre S, Carelli L, Pain D, Radici A, Lizio A, Casiraghi J, Cerri F, Brugnera A, Compare A, Woolley S, Murphy J, Tremolizzo L, Appollonio I, Verde F, Silani V, Ticozzi N, Lunetta C, Sansone VA, Poletti B.

Clinimetrics of the cognitive section of the Italian ALS Cognitive Behavioral Screen (ALS-CBS™).

Neurol Sci. 2023 Apr;44(4):1243-1249. doi: 10.1007/s10072-022-06569-9. Epub 2022 Dec 22

Lattuada C, Santangelo S, Peverelli S, McGoldrick P, Rogaeva E, Zinman L, Haase G, Géli V, Silani V, Robertson J, Ratti A, Bossolasco P.

Generation of five induced pluripotent stem cells lines from four members of the same family carrying a C9orf72 repeat expansion and one wild-type member.

Stem Cell Res. 2023 Feb;66:102998. doi: 10.1016/j.scr.2022.102998. Epub 2022 Dec 9

Verde F, Milone I, Maranzano A, Colombo E, Torre S, Solca F, Doretto A, Gentile F, Manini A, Bonetti R, Peverelli S, Messina S, Maderna L, Morelli C, Poletti B, Ratti A, Silani V, Ticozzi N. *Serum levels of glial fibrillary acidic protein in patients with amyotrophic lateral sclerosis.*

Ann Clin Transl Neurol. 2023 Jan;10(1):118-129. doi: 10.1002/acn3.51708. Epub 2022 Dec 16

Aiello EN, Solca F, Torre S, Patisso V, De Lorenzo A, Treddenti M, Colombo E, Maranzano A, Morelli C, Doretto A, Verde F, Silani V, Ticozzi N, Poletti B.

Bulbar involvement and cognitive features in amyotrophic lateral sclerosis: a retrospective study on 347 patients.

Front Aging Neurosci. 2023 Jul 20;15:1217080. doi: 10.3389/fnagi.2023.1217080. eCollection 2023

Agosta F, Spinelli EG, Basaia S, Cividini C, Falbo F, Pavone C, Riva N, Canu E, Castelnovo V, Magnani G, Caso F, Caroppo P, Prioni S, Villa C, Tremolizzo L, Appollonio I, Silani V, Josephs KA,

Whitwell J, Filippi M. Functional Connectivity From Disease Epicenters in Frontotemporal Dementia.

Neurology. 2023 May 30;100(22):e2290-e2303. doi: 10.1212/WNL.0000000000207277. Epub 2023 Apr 17

Colombo E, Gentile F, Maranzano A, Doretti A, Verde F, Olivero M, Gagliardi D, Faré M, Meneri M, Poletti B, Maderna L, Corti S, Corbo M, Morelli C, Silani V, Ticozzi N.

The impact of upper motor neuron involvement on clinical features, disease progression and prognosis in amyotrophic lateral sclerosis.

Front Neurol. 2023 Sep 26;14:1249429. doi: 10.3389/fneur.2023.1249429. eCollection 2023

Ruggiero F, Zirone E, Molisso MT, Carandini T, Fumagalli G, Pietroboni A, Ferrucci R, Aiello EN, Poletti B, Silani V, Comi G, Scarpini E, Barbieri S, Arighi A, Mameli F.

Telemedicine for cognitive impairment: a telephone survey of patients' experiences with neurological video consultation.

Neurol Sci. 2023 Nov;44(11):3885-3894. doi: 10.1007/s10072-023-06903-9. Epub 2023 Jun 27

Verde F, Aiello EN, Adobbati L, Poletti B, Solca F, Tiloca C, Sangalli D, Maranzano A, Muscio C, Ratti A, Zago S, Ticozzi N, Frisoni GB, Silani V.

Coexistence of Amyotrophic Lateral Sclerosis and Alzheimer's Disease: Case Report and Review of the Literature.

J Alzheimers Dis. 2023;95(4):1383-1399. doi: 10.3233/JAD-230562

Crema C, Buonocore TM, Fostinelli S, Parimbelli E, Verde F, Fundarò C, Manera M, Ramusino MC, Capelli M, Costa A, Binetti G, Bellazzi R, Redolfi A.

Advancing Italian biomedical information extraction with transformers-based models: Methodological insights and multicenter practical application.

J Biomed Inform. 2023 Dec;148:104557. doi: 10.1016/j.jbi.2023.104557. Epub 2023 Nov 25

Totale I.F. 218,60

INIZIATIVE DIDATTICHE ISTITUZIONALI

I mercoledì dell'aggiornamento relativo ai casi clinici

- Clinica
- Laboratorio di Neuroscienze
- Clinico/Laboratorio

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*
- *Exploration of Neuroprotective Therapy*

GRANT ATTIVI - 2023

Bando PRIN 2022 MUR_Antonia Ratti (ruolo Partner)_ “Deciphering the role of senescence in glia-to-neuron miscommunication through extracellular vesicles in ALS.

Euro 126.732

Bando AriSLA 2023_Antonia Ratti (ruolo Partner)_ “Genome wide investigation of oligogenic inheritance in ALS: searching for digenic disease genes with machine learning in a population-based cohort”.

Euro

47.400

GRANT ATTIVI NEL 2023			
Tipo bando e finanziamento	Ente finanziatore	Titolo	Finanziamento quota IAI
RF - Giovani ricercatori	Ministero Salute	The role of the novel NEK1 and C21orf2 genes associated to DNA repair in the pathogenesis of the novel NEK1 and C21orf2 genes associated to DNA repair in the pathogenesis of Amyotrophic Lateral Sclerosis	€ 245.000,00
RF	Ministero Salute	Cross-disease analysis of molecular and cellular mechanisms in KIF5A-associated neurodegenerative disorders	€ 150.150,00
ERANET - CVD 2018	Ministero Salute	Genomic Instability of Expanded Repeats in HD and ALS/FTD	€ 210.000,00
RF	Ministero Salute	Dysfunction of RNA processing and autophagy in human ALS disease cell models: a bioassay for new therapeutic strategies	€ 260.000,00
RF	Ministero Salute	Peripheral Nervous System involvement in Amyotrophic Lateral Sclerosis: from diagnosis to disease understanding	€ 175.000,00
RF	Ministero Salute	Targeting synapse dysfunction in Parkinson's disease	€ 30.000,00
Call for Applications for ALS research projects	AriSLA	Autozygosity mapping followed by next generation sequencing in unrelated consanguineous individuals to identify novel ALS-associated genes	€ 178.500,00
RF	Ministero Salute	Biomarker-driven phenotypic dissection of amyotrophic lateral sclerosis	€ 177.000,00
Ministero della Salute Bando PNRR	Ministero Salute	Towards a PERSONalized Medicine in amyotrophic lateral sclerosis (ALS) by a patient-tailored genetic/biomarker/iPSC combined approach - PERMEALS	€ 200.000,00
Bando per il sostegno a progetti di ricerca e sviluppo nelle tematiche della salute e del benessere Il presente	Regione Veneto	Sclerosi Laterale Amiotrofica: sviluppo di un diagnostico Molecolare (SLALOM)	€ 15.000,00
RF - Giovani ricercatori	Ministero Salute	Autoimmune Dementia: predictors of neuronal synaptic antibodies in patients with new-onset cognitive impairment and their relevance in non-encephalitic forms. The ADONIS Study	€ 153.538,00
TOTALE			€ 1.794.188,00

TRIALS ATTIVI NEL 2023		
Ente finanziatore	Titolo	Valorizzazione in caso di arruolamento completo
Eli Lilly and Company	Trattamento preventivo dell'emicrania: risultati su pazienti nei sistemi sanitari del mondo reale (TRIUMPH)	€ 27.555,00
Teva Pharmaceuticals Europe B.V.	Studio osservazionale Pan-Europeo sull'efficacia di fremanezumab nei pazienti con emicrania cronica o episodica nel mondo-reale: studio PEARL	€ 21.240,00
AB Science S.A.	Studio prospettico, multicentrico, randomizzato, in doppio cieco, controllato verso placebo, a gruppi paralleli, di fase III, per confrontare l'efficacia e la sicurezza di masitinib in combinazione con riluzolo versus placebo in combinazione con riluzolo nel trattamento di pazienti affetti da Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA)	€ 21.100,00
Mitsubishi Tanabe Pharma Development America, Inc	Studio di Fase 3b, multicentrico, randomizzato, in doppio cieco per valutare l'efficacia e la sicurezza di edaravone orale somministrato per un periodo di 48 settimane a soggetti con sclerosi laterale amiotrofica (SLA)	€ 25.930,00
Ferrer Internacional S.A.	Studio multicentrico, randomizzato, in doppio cieco, controllato verso placebo, per valutare la sicurezza e l'efficacia di FAB122 in pazienti affetti da Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA)	€ 102.877,00
Amylyx Pharmaceuticals Inc.	Studio di fase III, multicentrico, randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo, volto a valutare la sicurezza e l'efficacia di AMX0035 rispetto al placebo per il trattamento di 48 settimane di pazienti adulti affetti da sclerosi laterale amiotrofica (SLA)	€ 75.600,00
PTC Therapeutics, Inc.	Studio di fase 2, randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo, a gruppi paralleli, volto a valutare l'efficacia, la sicurezza, la tollerabilità, la PK e gli effetti sui biomarcatori di PTC857 in soggetti adulti affetti da sclerosi laterale amiotrofica (CARDINALS)	€ 23.148,65
Mitsubishi Tanabe Pharma Development America, Inc	Studio di estensione di fase IIb, multicentrico, randomizzato, in doppio cieco per valutare il mantenimento dell'efficacia e della sicurezza di edaravone orale somministrato per un periodo aggiuntivo fino a 48 settimane dopo lo studio MT-1186-A02 a soggetti con sclerosi laterale amiotrofica (SLA)	€ 55.546,20
Denali Therapeutics Inc.	Studio di fase 1/2, multicentrico, randomizzato, controllato con placebo, a dose singola e multidose in doppio cieco, per valutare la sicurezza, la tollerabilità, la farmacocinetica e la farmacodinamica di DNL593 in partecipanti sani e partecipanti affetti da demenza frontotemporale, seguito da un'estensione in aperto	€ 51.280,00
Amylyx Pharmaceuticals Inc.	Studio di estensione di fase IIb, in aperto, per valutare la sicurezza e la tollerabilità di AMX0035 fino a 108 settimane in partecipanti adulti affetti da sclerosi laterale amiotrofica (SLA) precedentemente arruolati nello studio A35-004 (PHOENIX)	€ 16.450,00
Ferrer Internacional S.A.	Uno studio di estensione in aperto, multicentrico, per valutare la sicurezza a lungo termine di FAB122 in pazienti con Sclerosi Laterale Amiotrofica (ADOREXT)	€ 25.190,00
Eli Lilly and Company Ltd.	Malattia di Alzheimer Revisione della cartelle cliniche	€ 4.500,00
Chordate Medical AB	Studio post-marketing in aperto di follow-up clinico per la performance a lungo termine e la sicurezza dell'oscillazione cinetica intranasale in soggetti con emicrania cronica	€ 48.750,00
TOTALE		€ 450.371,85

**LABORATORIO ULTRASPECIALISTICO DI GENETICA MEDICA CON
AREE DI GENETICA MOLECOLARE E CITOGENETICA, UNITÀ DI
BIOINFORMATICA E BIOLOGIA COMPUTAZIONALE - IRCCS E.
MEDEA- SEDE DISTACCATA DEL CENTRO “DINO FERRARI”**

RESPONSABILE

Dott. M.T. Bassi

PERSONALE STRUTTURATO:

BIOLOGI:

Dott. Sara Bertuzzo
Dott. Maria Clara Bonaglia
Dott. Rachele Cagliani
Dott. Andrea Citterio
Dott. Andrea Daga
Dott Roberto Giorda
Dott Alessandra Mozzi
Dott. Elena Panzeri
Dott. Eliana Salvo
Dott. Manuela Sironi
Dott. Chiara Vantaggiato

BIOINGEGNERE:

Ing Uberto Pozzoli

BIOTECNOLOGI:

Dott. Diego Forni
Dott. Marco Pozzi

PERSONALE LAUREATO BORSISTA-CONTRATTISTA: BIOLOGI

Dott. Fabiana Mambretti

PERSONALE LAUREATO BORSISTA-CONTRATTISTA: BIOTECNOLOGI

Dott. Luca Fumagalli
Dott. Francesca Brivio

PERSONALE TECNICO STRUTTURATO

Cinzia Baschirotto
Luca Cesana
Paola Pozzi
Sandra Belluschi

L'attività di ricerca relativa all'anno 2023, del **Laboratorio Ultraspecialistico di Genetica Medica con aree di Genetica Molecolare e Citogenetica; Unità di Bioinformatica e Biologia Computazionale** sezione distaccata del Centro Dino Ferrari, si è articolata su diversi filoni di ricerca già in corso.

Da sottolineare, nel 2023 il laboratorio di genetica molecolare citogenetica si è riclassificato in base alla DGR n.XI/7044/2022 come **“Laboratorio Ultraspecialistico di Genetica Medica con aree di Genetica Molecolare e Citogenetica”**. La denominazione dell'Unità di Bioinformatica e Biologia computazionale è rimasta invariata.

In particolare nell'ambito della Genetica molecolare è proseguita l'attività di screening genetico per l'identificazione del difetto molecolare in diversi gruppi di pazienti con patologie neurologiche rare (RNDs), nel contesto di progetti ministeriali (RC2023 e RF) ed extra ministeriali (Fondazione Regionale per la Ricerca Biomedica della Regione Lombardia- progetto in corso Care4Neurorare).

Nel complesso sono stati analizzati 200 casi di pazienti con Atassie, paraparesi spastiche (forme pure e complicate) leucodistrofie e disturbi del neurosviluppo tramite analisi NGS con pannelli patologia specifici ed esoma clinico e WES. L'analisi di WES ha permesso di identificare alcune famiglie con varianti patogenetiche associate a quadri atipici rispetto a quanto riportato in letteratura in casi di paraparesi spastica e atassia. I geni coinvolti sono *IFIH1*, *RNASE2H2*, *ATP5F1A*, *TRPV4*, *SHQ1* e 2 candidati nuovi geni per forme pure di paraparesi spastica che sono attualmente in corso di caratterizzazione.

Parallelamente, si è proseguita la caratterizzazione delle basi molecolari del sottotipo di paraparesi spastica pura e complicata (SPG76), utilizzando sia fibroblasti di pazienti SPG76 sia il modello di *Drosophila* generato da noi con tecnologia CRISPR- Cas9. Il lavoro condotto in vitro su modelli cellulari indicano che l'assenza di calpaina1 in SPG76, insieme all'aumento dei livelli di calpaina 2, riduce l'attivazione del pathway di sopravvivenza Akt, riduce l'inibizione del fattore pro-apoptotico GSK3 β e induce un'eccessiva attivazione della risposta UPR, portando all'attivazione di CHOP e delle caspasi. Il lavoro è poi proseguito con l'obiettivo di identificare composti che possano portare al rescue dell'apoptosi in cellule SPG76 modulando il signalling Akt/GSK3 β usando specifici inibitori. Abbiamo quindi testato nelle cellule SPG76 alcune sostanze che permettono di attivare il pathway Akt/GSK3 β , allo scopo di ottenere il rescue del fenotipo patologico. In particolare abbiamo testato inibitori di calpaina2 (ALLN, MDL28170, Olesoxime), inibitori di GSK3 β (SB216763, Tideglusib, litio cloruro, sodio valproato, TDZD8), inibitori di PTEN (SF1670, bpV(pic) e bpV (HOpic) e naringenin, un flavonoide naturale con azione neuroprotettiva e antiapoptotica. Abbiamo analizzato l'effetto di ogni composto sui livelli di attivazione di Akt e GSK3 β , sui livelli di espressione dei geni della risposta UPR (ATF4, IRE1, GRP78, GRP94, XBP1 e CHOP) in condizioni basali e in condizioni di stress (indotto con EBSS). Abbiamo dimostrato che gli inibitori di calpaina 2, ALLN, MDL28170, Olesoxime, e gli inibitori di PTEN, bpV(pic) e bpV (HOpic), aumentano i livelli di attivazione di Akt riducendo l'attivazione del fattore pro-apoptotico GSK3 β . Inoltre riducono i livelli di espressione dei geni della risposta UPR e l'induzione dell'apoptosi. Queste sostanze infatti riducono i livelli di attivazione delle caspasi e la morte cellulare indotta in cellule SPG76 in seguito a trattamento con EBSS. Nel modello di *Drosophila* di SPG76, abbiamo rilevato che l'assenza di calpaina1 riduce la sopravvivenza del modello di SPG76 rispetto al controllo. La presenza di deficit motori è stata analizzata utilizzando un saggio di arrampicata; abbiamo rilevato che la linea CRISP SPG76 presenta una ridotta attività motoria rispetto al controllo (linea W1118) in tutti i tempi analizzati, suggerendo la presenza di difetti motori, un fenotipo spesso presente nei modelli di *Drosophila* di HSP e di malattie neurodegenerative.

Nell'ambito del laboratorio di Citogenetica, l'attività di ricerca si è indirizzata verso l'implementazione della tecnologia di Optical Genome Mapping (OGM). I riarrangiamenti genomici, definiti anche varianti strutturali (SVs), sono una causa comune di malattia e contribuiscono in larga misura alla variabilità inter-individuale. Tuttavia, la loro identificazione e interpretazione rimane una sfida, e questo è il principale focus di ricerca dell'area di citogenomica del IRCCS E. Medea. Molte varianti strutturali (SVs) che mappano in regioni costituite da sequenze ripetute sono difficili, se non

impossibili, da identificare mediante il sequenziamento short-reads (esoma e genoma), che è attualmente la forma NGS più comunemente utilizzata. Questo significa che una porzione significativa del nostro genoma, dove possono nascondersi nuovi paradigmi malattia, non è studiata. Vi sono prove crescenti che OGM possa integrare tutte le classi di SVs indipendentemente dalla composizione della sequenza. Studi recenti, inclusi i nostri (Bonaglia et al. 2023 doi: 10.3389/fgene.2023.1244983; Orlando et al. 2022 doi: 10.3390/ijms232112900; de Bruijn et al. 2023 doi.org/10.1016/j.gim.2022.11.013), dimostrano che OGM sta identificando varianti copy-neutral, clinicamente rilevanti, che mappano in regioni refrattarie al sequenziamento e sfuggono all'analisi array-CGH. Questo è il caso di inserzioni e inversioni submicroscopiche per le quali OGM ha dimostrato essere molto più frequenti di quanto stimato in precedenza. Pertanto, sebbene OGM non sia ancora un test disponibile nella pratica clinica, esso rappresenta un approccio promettente per analizzare il genoma di individui che non hanno ancora ricevuto una diagnosi molecolare (negativi a esoma e array-CGH) o che sono portatori di varianti genomiche non completamente risolte alla prima valutazione clinica. Infine OGM, se confrontato con altre tecnologie molecolari, è molto complementare ai test basati sul sequenziamento. Quindi se utilizzato insieme a NGS (short- o long-reads sequencing) è possibile ottenere un quadro completo di tutte le SVs, da quelle a singolo nucleotide fino all'intero cariotipo.

Per quanto riguarda l'Unità di bioinformatica nel corso del 2023, è stato ampliato ed approfondito l'utilizzo di strumenti di evoluzione molecolare per studiare la diversità e l'adattamento alla nostra specie di virus che infettano la nostra specie. Un focus specifico è stato dedicato all'uso di metodiche di evoluzione molecolare per studiare la storia evolutiva e la diversità genetica di MPXV/hMPXV1 (monkeypox virus e human monkeypox virus 1), VARV (Variola virus), e SARS-CoV-2. Sono state studiate a livello più generale le caratteristiche genomiche dei virus nella famiglia *Poxviridae* con l'obiettivo di comprendere i dettagli molecolari delle interazioni ospite-patogeno al fine di fornire informazioni utili per comprendere i determinanti molecolari di virulenza. E' stata caratterizzata la funzione della proteina ORF3c di SARS-CoV-2 ed è stata analizzata la composizione in dinucleotidi dei virus a RNA che infettano diversi ospiti al fine di identificare “firme molecolari”.

Un'altra attività svolta durante questo anno ha visto la messa a punto di un protocollo di sequenziamento high throughput basato su un approccio metagenomico e tecnologia Illumina. L'utilizzo di un sequenziamento di tipo metagenomico permette di analizzare varie specie virali anche molto differenti tra di loro applicando il medesimo protocollo. Contemporaneamente, è stata predisposta una pipeline bioinformatica per l'analisi dei dati.

Infine, durante questo anno di attività sono stati reclutati 9 pazienti con encefalite, di cui 4 con encefalite erpetica, 3 di natura batterica e 2 con encefalite non infettiva. Per ciascun soggetto è stato prelevato un campione di sangue da cui è stato estratto il DNA genomico. Per i soggetti con encefalite erpetica è stato effettuato l'esoma. Sono in corso le analisi bioinformatiche per valutare la presenza di mutazioni in geni già associati a forme di encefaliti erpetiche: geni del pathway TLR3 (TLR3, UNC93B1, TRIF, TRAF3, TBK1, IRF3), DBR1, SNORA31 e GTF3A. Si valuteranno inoltre varianti in geni non ancora associati a predisposizione ad encefalite erpetica ma che è noto essere coinvolti nella regolazione della risposta immune innata a infezione da herpesvirus.

Elenco dei progetti sviluppati nel corso del 2023 presso il laboratorio di Genetica e l'Unità di bioinformatica:

- Genetica delle Malattie neurologiche rare: modelli cellulari e meccanismi patogenetici- R corrente
- Un approccio omico per la caratterizzazione delle conseguenze funzionali e fenotipiche delle varianti genomiche strutturali rare nella disabilità del neurosviluppo e anomalie congenite- R corrente

- Studio evolutivo di conflitti genetici di interesse biomedico- R corrente
- Sottoprogetto - Analisi del significato funzionale dei siti selezionati positivamente nel genoma di HCMV- R corrente
- Il ruolo della diversità genetica in EBV nella suscettibilità alla Sclerosi Multipla- prog 5X mille
- Multimodalità, intelligenza artificiale e big data: rianalisi, razionalizzazione e integrazione di basi dati raccolte in studi esistenti- prog 5X Mille
- Citogenetica di nuova generazione”: impatto delle tecnologie di sequenziamento cromosomico di terza generazione nella diagnosi genetica dei disordini del neurosviluppo con o senza malformazioni congenite” OPTICAL GENOME MAPPING- prog 5X Mille
- An integrated omics approach for patients with rare neurological disorders: towards personalized clinical care and trial readiness- CARE4NEURORARE (Bando Fondazione Regionale Lombarda per la ricerca biomedica).
- Caratterizzazione delle sequenze codificanti di SARS-CoV-2 e valutazione del loro ruolo nella patogenesi di COVID-19-(Bando Regione Lombardia- DG Welfare).
- Functional and clinical studies of lipid linked hereditary spastic paraplegia- RF-2019-12370112

COLLABORAZIONI NAZIONALI

Dott. FM Santorelli- Fondazione IRCCS Stella Maris, Pisa

Prof Luca De Gioia - Department of Biotechnology and Biosciences, University of Milan-Bicocca, 20126 Milan, Italy.

Prof. Mario Clerici -Department of Physiopathology and Transplantation, University of Milan, 20090 Milan, Italy. and Don C. Gnocchi Foundation ONLUS, IRCCS, 20148 Milan, Italy.

Prof Giuseppe Bianchi - Nephrology and Dialysis Unit, San Raffaele Scientific Institute, University Vita Salute San Raffaele, Milan, Ita

Dott. Franca Guerini - Don C. Gnocchi Foundation ONLUS, IRCCS, 20100 Milan, Italy

Dott. Mara Biasin - Department of Biomedical and Clinical Sciences, University of Milan, 20157 Milan, Italy

Prof. Roberto de Franchis - IBD Unit, Chair of Gastroenterology, Luigi Sacco University Hospital, 20157 Milan

Dott. Sergio Lo Caputo - S. Maria Annunziata Hospital, 50122 Florence, Italy

Dott. Rosanna Asselta - Dipartimento di Biotecnologie Mediche e Medicina Traslazionale, Università degli Studi di Milano, Milano, Italy.

Dott. Matteo Cereda - Department of Experimental Oncology, European Institute of Oncology (IEO), 20139 Milan, Italy

Dott. Franco Taroni- Fondazione IRCCS C. Besta Milano

Prof Stefania Corti, IRCCS Cà Granda Policlinico di Milano, Univ. Di Milano

COLLABORAZIONI INTERNAZIONALI

E.I Rugali University of Cologne Joseph-Stelzmann-Str. 26 50931 Köln Germany
Edward J Hollox - Department of Genetics, University of Leicester, Leicester LE2 1TE, UK

Nasser M. Al-Daghri - Biomarker research program, Biochemistry Department, College of Science, King Saud University, Riyadh 11451, Kingdom of Saudi Arabia (KSA) and Prince Mutaib Chair for Biomarkers of Osteoporosis, Biochemistry Department, College of science, King Saud University, Riyadh, KSA

Dott. Juan Antonio Pineda - Infectious Diseases and Microbiology Clinical Unit. Valme Hospital, Seville, Spain

Dott. Antonio Rivero-Juarez - Maimonides Institut for Biomedical Research (IMIBIC)-Reina Sofia University Hospital-University of Cordoba, Spain

Dott. Antonio Caruz - Immunogenetics Unit, Department of Experimental Biology, University of Jaen, Jaen, Spain

Dott. Manuel Comabella - Hospital Universitari Vall d' Hebron (HUVH). Barcelona, Spain

Dott. Matteo Fumagalli - UCL Genetics Institute, Department of Genetics, Evolution and Environment, University College London, Gower Street, London WC1E 6BT, United Kingdom

ESTRATTO PUBBLICAZIONI ANNO 2023

Bonaglia Maria Clara, Salvo Eliana, Sironi Manuela, Bertuzzo Sara, Errichiello Edoardo, Mattina Teresa, Zuffardi Orsetta (2023);

Case report: Decrypting an interchromosomal insertion associated with marfan's syndrome: how optical genome mapping emphasizes the morbid burden of copy-neutral variants;

Frontiers in Genetics, 14:1244983 – **Case Report**

DOI: 10.3389/fegne.2023.1244983 PMID: 37811140 I.F. 2022: 3,7

Burdeus-Olavarrieta Monica, Nevado Julian, Van Weering-Scholten Sabrina, Parker Susanne, the European Phelan-McDermid Syndrome Consortium (Bonaglia Maria Clara), Swillen Ann (2023); *Consensus recommendations on communication, language and speech in phelan-mcdermid syndrome;*

European Journal of Medical Genetics, 66(5):104745

DOI: 10.1016/j.ejmg.2023.104745 PMID: 36871884 I.F. 2022: 1,9

Cunha Paulina, Petit Emilien, Coutelier Marie, Coarelli Giulia, Mariotti Caterina, Faber Jennifer, Van Gaalen Judith, Damasio Joana, Fleszar Zofia, Tosi Michele, Rocca Clarissa, De Michele Giovanna, Minnerop Martina, Ewencyk Claire, Santorelli Filippo Maria, Heinzmann Anna, Bird Thomas, Amprosi Matthias, Indelicato Elisabetta, Benussi Alberto, Charles Perrine, Stendel Claudia, Romano Silvia, Scarlato Marina, Le Ber Isabelle, Bassi Maria Teresa, Serrano Mercedes, Schmitz-Huebsch Tanja, Doss Sarah, Van Velzen Gijs A.J., Thomas Quentin, Trabacca Antonio, Ortigoza-Escobar Juan Dario, D'Arrigo Stefano, Timmann Dagmar, Pantaleoni Chiara, Martinuzzi Andrea, Besse-Pinot Elsa, Marsili Luca, Cioffi Ettore, Nicita Francesco, Giorgetti Alejandro, Moroni Isabella, Romaniello Romina, Casali Carlo, Ponger Penina, Casari Giorgio, De Bot Susanne T., Ristori Giovanni, Blumkin Lubov, Borroni Barbara, Goizet Cyril, Marelli Cecilia, Boesch Sylvia, Anheim Mathieu, Filla Alessandro, Houlden Henry, Bertini Enrico Silvio, Klopstock Thomas, Synofzik Matthias, Riant Florence, Zanni Ginevra, Magri Stefania, Di Bella Daniela, Nanetti Lorenzo, Sequeiros Jorge, Oliveira Jorge, Van De Warrenburg Bart P., Schoels Ludger, Taroni Franco, Brice Alexis, Durr Alexandra (2023);

Extreme phenotypic heterogeneity in non-expansion spinocerebellar ataxias;

American Journal of Human Genetics, 110(7):1098-1109

DOI: 10.1016/j.ajhg.2023.05.009 PMID: 37301203 I.F. 2022: 9,8

Damstra Robert J., Vignes Stephane, the European Phelan-McDermid Syndrome Consortium (Bonaglia Maria Clara), Mansour Sahar (2023);

Consensus recommendations on lymphedema in phelan-mcdermid syndrome;

European Journal of Medical Genetics, 66(6):104767

DOI: 10.1016/j.ejmg.2023.104767 PMID: 37075886 I.F. 2022: 1,9

Decio Alice, Giorda Roberto, Panzeri Elena, Bassi Maria Teresa, D'Angelo Maria Grazia (2023);
Clinical phenotype and next-generation sequencing as essential tools for the diagnosis of a rare form of congenital myopathy due to a trip4 intragenic deletion;

Neurological Sciences, Letter to the Editor in press

DOI: 10.1007/s10072-023-07102-2 PMID: 37792112 I.F. 2022: 3,3

De Coo Irenaesu F.M., Jesse Sarah, Le Thuy-Linh, Sala Carlo, the European Phelan-McDermid Syndrome Consortium (Bonaglia Maria Clara), Bourgeron Thomas (2023);

Consensus recommendations on epilepsy in phelan-mcdermid syndrome; **European Journal of Medical Genetics**, 66(6):104746 - Review

DOI: 10.1016/j.ejmg.2023.104746 PMID: 36967043 I.F. 2022: 1,9

Forni Diego, Cagliani Rachele, Pozzoli Uberto, Sironi Manuela (2023);

An Apobec3 mutational signature in the genomes of human-infecting orthopoxviruses;

mSphere, 8(2):e0006223

DOI: 10.1128/msphere.00062-23 PMID: 36920219 I.F. 2022: 4,8

Forni Diego*, Molteni Cristian*, Cagliani Rachele, Clerici Mario, Sironi Manuela (2023);

Analysis of variola virus molecular evolution suggests an old origin of the virus consistent with historical records;

Microbial Genomics, 9(1):000932

* Autori che hanno contribuito in ugual misura al lavoro DOI: 10.1099/mgen.0.000932 PMID: 36748699 I.F. 2022: 3,9

Forni Diego*, Moltrasio Chiara*, Sironi Manuela, Mozzi Alessandra, Quattri Eleonora, Venegoni Luigia, Zamprogno Marzia, Citterio Andrea, Clerici Mario, Marzano Angelo V., Cagliani Rachele (2023);

Whole-genome sequencing of hmpxv1 in the five italian cases confirms the occurrence of the predominant epidemic lineage;

Journal of Medical Virology, 95(2):e28493

* Autori che hanno contribuito in ugual misura al lavoro DOI: 10.1002/jmv.28493 PMID: 36633196 I.F. 2022: 12,7

Forni Diego*, Pozzoli Uberto*, Cagliani Rachele, Clerici Mario, Sironi Manuela (2023);

Dinucleotide biases in rna viruses that infect vertebrates or invertebrates;

Microbiology Spectrum, 11(6):e0252923 - Open Peer Review

* Autori che hanno contribuito in ugual misura al lavoro

DOI: 10.1128/spectrum.02529-23 PMID: 37800906 I.F. 2022: 3,7

Miceli Martina, Failla Pinella, Saccuzzo Lucia, Galesi Ornella, Amata Silvestra, Romano Corrado, Bonaglia Maria Clara, Fichera Marco (2023);

Trait-driven analysis of the 2p15p16.1 microdeletion syndrome suggest a complex pattern of interactions between candidate genes;

Genes & Genomics, 45(4):491-505

DOI: 10.1007/s13258-023-01369-7 PMID: 36807877 I.F. 2022: 2,1

Molteni Cristian, Forni Diego, Cagliani Rachele, Arrigoni Federica, Pozzoli Uberto, De Gioia Luca, Sironi Manuela (2023);

Selective events at individual sites underlie the evolution of monkeypox virus clades;

Virus Evolution, 9(1):1-12 – Rapid Communication

DOI: 10.1093/ve/vead031 PMID: 37305708 I.F. 2022: 6,9

Molteni Cristian, Forni Diego, Cagliani Rachele, Bravo Ignacio G., Sironi Manuela (2023);

Evolution and diversity of nucleotide and dinucleotide composition in poxviruses;

Journal of General Virology, 104(10):001897 DOI: 10.1099/jgv.0.001897 PMID: 37792576

I.F. 2022: 3,8

Molteni Cristian*, Forni Diego*, Cagliani Rachele, Mozzi Alessandra, Clerici Mario, Sironi Manuela (2023);

Evolution of the orthopoxvirus core genome;

Virus Research, 323:198975

* Autori che hanno contribuito in ugual misura al lavoro DOI: 10.1016/j.virusres.2022.198975 PMID: 36280003 I.F. 2022: 5,0

Moltrasio Chiara*, Cagliani Rachele*, Sironi Manuela, Clerici Mario, Pontremoli Chiara, Maronese Carlo Alberto, Tricarico Paola Maura, Crovella Sergio, Marzano Angelo V. (2023);

Autoinflammation in syndromic hidradenitis suppurativa: the role of aim2; vaccines, 11(1):162 –

Brief Report

* Autori che hanno contribuito in ugual misura al lavoro DOI: 10.3390/vaccines11010162 PMID: 36680007 I.F. 2022: 7,8

Mozzi Alessandra*, Oldani Monica*, Forcella Matilde*, Vantaggiato Chiara, Cappelletti Gioia, Pontremoli Chiara, Valenti Francesca, Forni Diego, Saresella Marina, Biasin Mara, Sironi Manuela, Fusi Paola^, Cagliani Rachele^ (2023);

Sars-cov-2-orf3c impairs mitochondrial respiratory metabolism, oxidative stress, and autophagic flux; i

Science, 26(7):107118

* § Autori che hanno contribuito in ugual misura al lavoro

^ Co-senior authors and § Co-corresponding author

DOI: 10.1016/j.isci.2023.107118 PMID: 37361873 I.F. 2022: 5,8

Panzeri Elena, Citterio Andrea, Martinuzzi Andrea, Ancona Vera, Martini Eleonora, Bassi Maria Teresa (2023);

Case report: a novel fars2 deletion and a missense variant in a children with complicated, rapidly progressive spastic paraplegia;

Frontiers in Genetics, 14:1130687 – Case Report DOI: 10.3389/fgene.2023.1130687 PMID: 37152989 I.F. 2022: 3,7

“Centro Dino Ferrari”
Il Coordinatore Scientifico
Prof. Giacomo Pietro Comi

