



**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**

### **2024**

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](mailto:giacomo.comi@unimi.it) - [centro.dinoferrari@policlinico.mi.it](mailto:centro.dinoferrari@policlinico.mi.it) - [www.centrodinoferrari.com](http://www.centrodinoferrari.com)

## **SEZIONI DEL “CENTRO DINO FERRARI”**

LABORATORIO DI BIOCHIMICA E GENETICA	Pag. 3
LABORATORIO DI NEUROIMMUNOLOGIA CLINICA	Pag. 23
LABORATORIO CELLULE STAMINALI NEURALI	Pag. 33
SSD MALATTIE NEUROMUSCOLARI E RARE	Pag. 47
LABORATORIO DI CELLULE STAMINALI	Pag. 63
SSD MALATTIE NEURODEGENERATIVE	Pag. 77
SS STROKE UNIT	Pag. 93
CENTRO PARKINSON ED ALTRI DISTURBI DEL MOVIMENTO	Pag. 97
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. 137

## **LABORATORIO DI BIOCHIMICA E GENETICA**

### **RESPONSABILE**

Prof. Giacomo Pietro Comi

### **MEDICI**

Dott.sa Francesca Magri

Dott.sa Megi Meneri

Dott.sa Delia Gagliardi

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

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 canalopatie muscolari, 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 sequeziamento 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 riconsiderato 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 2024 abbiamo applicato l'analisi dell'esoma clinico a più di 50 pazienti afferenti al Centro Dino Ferrari con una presentazione clinica nell'ambito neuromuscolare.

Abbiamo inoltre esaminato i risultati molecolari ottenuti utilizzando protocolli diagnostici basati sul sequenziamento di nuova generazione (NGS) presso il Centro Dino Ferrari. Negli ultimi 5 anni un totale di 183 pazienti con sospetto di malattia muscolare primaria sono stati sottoposti a test

molecolari basati su NGS, utilizzando i) i pannelli genici personalizzati mirati o ii) il sequenziamento dell'esoma clinico seguito dall'interpretazione diagnostica delle varianti nei geni associati a fenotipi clinici corrispondenti. Varianti patogenetiche sono state identificate in 74 pazienti (40%: diagnosi definitiva). Inoltre, varianti probabilmente patogenetiche e/o varianti di significato incerto con analisi funzionale e/o segregativa positiva sono state trovate in 21 pazienti aggiuntivi (11,5%: diagnosi probabile).

Il rendimento diagnostico dei due approcci è stato simile (50% contro 51,6%). Questo tasso tende ad aumentare nei pazienti affetti da distrofie muscolari (55%), miopatie congenite (57%) o canalopatie muscolari (65%), mentre scende al 36% nei pazienti con sospetto di miopatia metabolica. Il sequenziamento dell'esoma clinico ha permesso l'analisi di altri geni OMIM, portando a diagnosi inattese o all'ampliamento dello spettro clinico di geni noti associati a malattia. Il sequenziamento dell'esoma completo ha contribuito a identificare 3 nuovi geni correlati a malattia negli ultimi due anni. L'analisi simultanea di due membri affetti della stessa famiglia ha facilitato la diagnosi (88%). La biopsia muscolare era disponibile per 123 pazienti (47% dei quali con risultati genetici positivi) ed è risultata cruciale per l'interpretazione dei risultati incerti.

Accanto a questi dati molto rilevanti per la diagnosi delle malattie neuromuscolari, nel corso dell'ultimo anno abbiamo concluso alcune importanti ricerche nell'ambito della identificazione di nuove cause genetiche in forme non diagnosticate di miopatie ereditarie. In particolare:

- Identificazione di una nuova causa genetica nelle patologie da alterata omeostasi del DNA mitocondriale. Abbiamo identificato un nuovo gene malattia, GUK1, associando mutazioni bialleliche ad una forma di miopatia mitocondriale che può avere manifestazioni cliniche sia in età pediatria che nella vita adulta. La caratterizzazione nelle cellule e nei tessuti dei pazienti ha visto l'utilizzo di tecniche molecolari e biochimiche. Appare di grande interesse la parziale correzione di alcuni difetti molecolari e biochimici nelle cellule dei pazienti mediante due approcci farmacologici.
- Identificazione di una nuova causa genetica in una forma di miopatia congenita con presenza di corpi nemalinici associato a varianti patogenetiche nel gene TNNI1. Ci siamo occupati della identificazione e caratterizzazione della forma dominante di questa nuova condizione. Anche in questo caso è di notevole rilevanza la dimostrazione dell'efficacia di un farmaco, già approvato per la terapia, per il ripristino parziale di alcuni aspetti miopatologici di questa condizione nei pazienti adulti che abbiamo studiato. Questo studio apre la strada a una nuova terapia farmacologica per questa forma ultra-rara di malattie muscolare.
- Una serie di studi sugli aspetti clinici, istologici e molecolari nel campo delle miotonie (distrofiche e non distrofiche) con approfondimenti sulla storia naturale e la diagnosi in pazienti affetti da Distrofia Miotoniche e forme eterogenee di Canalopatie Muscolari.

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

## **1) MALATTIE MITOCONDRIALI**

1.1) Deficit di Guanilato Chinasi 1: una nuova condizione clinica associata a deplezione/delezione del DNA mitocondriale potenzialmente trattabile.

La sindrome da deplezione/delezione del DNA mitocondriale (MDDS) comprende un gruppo di malattie causate da difetti autosomici primari nella conservazione del DNA mitocondriale (mtDNA). L'obiettivo di questo studio è stato indagare l'eziologia della MDDS in 4 pazienti privi di varianti patogenetiche note nelle cause genetiche conosciute.

Il sequenziamento dell'intero esoma è stato eseguito sui probandi per identificare varianti patogenetiche. Il difetto mitocondriale è stato validato analizzando l'mtDNA, i pool mitocondriali di dNTP, le attività della catena respiratoria e l'attività di GUK1. Per confermare la patogenicità della carenza di GUK1, sono state espresse 2 isoforme di GUK1 nelle cellule dei pazienti.

Abbiamo identificato varianti patogenetiche bialleliche di GUK1 in tutti e 4 i probandi, che presentavano ptosi, oftalmoparesi e debolezza miopatica prossimale degli arti, oltre a epatopatia variabile e profili alterati dei linfociti T. Le biopsie muscolari di tutti i probandi mostravano deplezione, delezioni o entrambe, dell'mtDNA, oltre a ridotte attività degli enzimi della catena respiratoria mitocondriale. GUK1 codifica per la guanilato chinasi, inizialmente identificata come enzima citosolico. Esistono un'isoforma lunga e una corta di GUK1. Abbiamo osservato che l'isoforma lunga è intramitocondriale, mentre la corta è citosolica. Nei fibroblasti dei probandi è stata riscontrata una ridotta attività di GUK1 che causava uno squilibrio nei pool mitocondriali di dNTP e una deplezione dell'mtDNA sia nei fibroblasti in replicazione sia in quelli quiescenti, indicando che la carenza di GUK1 compromette sia le vie de novo sia quelle di salvataggio dei nucleotidi. I fibroblasti trattati con deossiguanosina e/o forodesina, un inibitore della fosfatasi purinica, hanno mostrato un miglioramento della deplezione dell'mtDNA, indicando possibili terapie farmacologiche. La carenza primaria di GUK1 rappresenta una nuova e potenzialmente trattabile causa di MDDS. L'isoforma citosolica di GUK1 potrebbe contribuire all'anomalia dei linfociti T, un aspetto non osservato in altre forme di MDDS.

Hidalgo-Gutierrez A, Shintaku J, Ramon J, Barriocanal-Casado E, Pesini A, Saneto RP, Garrabou G, Milisenda JC, Matas-Garcia A, Gort L, Ugarteburu O, Gu Y, Koganti L, Wang T, Tadesse S, Meneri M, Sciacco M, Wang S, Tanji K, Horwitz MS, Dorschner MO, Mansukhani M, Comi GP, Ronchi D, Marti R, Ribes A, Tort F, Hirano M. Guanylate Kinase 1 Deficiency:

*A Novel and Potentially Treatable Mitochondrial DNA Depletion/Deletions Disease.*

**Ann Neurol.** 2024 Dec;96(6):1209-1224. doi: 10.1002/ana.27071. Epub 2024 Sep 4. PMID: 39230499; PMCID: PMC11563867.

### **1.2) Deficienza di deossiguanosina chinasi: storia naturale ed esito del trapianto di fegato**

Le varianti patogenetiche autosomiche recessive nel gene DGUOK causano una carenza di attività della deossiguanosina chinasi e uno squilibrio nel pool di desossinucleotidi mitocondriali, portando conseguentemente a un danno quantitativo e/o qualitativo nella sintesi del DNA mitocondriale.

Tipicamente, i pazienti presentano insufficienza epatica ad esordio precoce, con o senza coinvolgimento neurologico, e un decorso clinico che progredisce rapidamente verso la morte. Questo studio multicentrico internazionale mira a fornire una storia naturale retrospettiva dei pazienti con carenza di deossiguanosina chinasi. È stata condotta una revisione sistematica della letteratura da gennaio 2001 a giugno 2023. I medici dei centri di ricerca o clinici di tutto il mondo che si occupano di pazienti precedentemente riportati sono stati contattati per fornire informazioni di follow-up o ulteriori dati clinici, biochimici, istologici/isto-chimici e genetico-molecolari per casi non riportati con una diagnosi molecolare confermata di carenza di deossiguanosina chinasi.

È stata analizzata una coorte di 202 pazienti con diagnosi genetica confermata, di cui 36 non riportati e 166 emersi dalla revisione sistematica della letteratura. L'esordio della malattia era neonatale ( $\leq 1$  mese) nel 55,7% dei casi, infantile ( $>1$  mese e  $\leq 1$  anno) nel 32,3%, pediatrico ( $>1$  anno e  $\leq 18$  anni) nel 2,5% e adulto ( $>18$  anni) nel 9,5%. L'analisi di Kaplan-Meier ha mostrato tassi di sopravvivenza statisticamente diversi ( $P < 0,0001$ ) tra i quattro gruppi di età, con la mortalità più alta per l'esordio neonatale.

Sulla base del fenotipo clinico, sono stati definiti quattro sottotipi clinici: epato-cerebrale (58,8%), epatopatia isolata (21,9%), epatomioencefalopatia (9,6%) e miopatia isolata (9,6%). Il

coinvolgimento muscolare era predominante nei casi ad esordio in età adulta, mentre la disfunzione epatica era la principale causa di morbidità e mortalità nei pazienti a esordio precoce, con una sopravvivenza mediana inferiore a 1 anno. Non è stata identificata alcuna correlazione genotipo-fenotipo.

Il trapianto di fegato ha significativamente modificato il tasso di sopravvivenza in 26 pazienti trattati rispetto a quelli non trattati. Solo sei pazienti hanno mostrato segni neurologici lievi aggiuntivi dopo il trapianto di fegato.

In conclusione, la carenza di deossiguanosina chinasi rappresenta uno spettro di malattia con una specificità prevalente per tessuti epatici e cerebrali nei pazienti a esordio neonatale e infantile e per i tessuti muscolari nei casi a esordio in età adulta. Il nostro studio fornisce dati clinici, genetico-molecolari e biochimici utili per una diagnosi precoce, la pianificazione di trial clinici e interventi immediati tramite trapianto di fegato e/o integrazione di nucleosidi.

Manzoni E, Carli S, Gaignard P, Schlieben LD, Hirano M, Ronchi D, Gonzales E, Shimura M, Murayama K, Okazaki Y, Barić I, Petkovic Ramadza D, Karall D, Mayr J, Martinelli D, La Morgia C, Primiano G, Santer R, Servidei S, Bris C, Cano A, Furlan F, Gasperini S, Laborde N, Lamperti C, Lenz D, Mancuso M, Montano V, Menni F, Musumeci O, Nesbitt V, Procopio E, Rouzier C, Staufner C, Taanman JW, Tal G, Ticci C, Cordelli DM, Carelli V, Procaccio V, Prokisch H, Garone C. *Deoxyguanosine kinase deficiency: natural history and liver transplant outcome*.

**Brain Commun.** 2024 May 6;6(3):fcae160. doi: 10.1093/braincomms/fcae160. PMID: 38756539; PMCID: PMC11098040.

## **2) MIOPATIE CONGENITE e DISTROFIE MUSCOLARI**

### **2.1) Varianti patogeniche di TNNI1 compromettono la contrattilità del sarcomero, causando forme di malattia muscolare ipo- e iper-contrattile**

La troponina I (TnI) regola l'attivazione dei filamenti sottili e la contrazione muscolare. Due isoforme, TnI-fast (TNNI2) e TnI-slow (TNNI1), sono espresse prevalentemente rispettivamente nelle fibre muscolari a contrazione rapida e lenta. Le varianti di TNNI2 sono una rara causa di artrogriposi, mentre le varianti di TNNI1 non erano state finora chiaramente associate a miopatie scheletriche.

Abbiamo identificato varianti loss-of-function recessive di TNNI1, così come varianti gain-of-function dominanti, come cause di malattie muscolari, ciascuna con conseguenze fisiologiche e meccanismi di malattia distinti.

In particolare, abbiamo identificato tre famiglie con varianti bialleliche di TNNI1 (F1: p.R14H/c.190-9G>A; F2 e F3: omozigoti p.R14C), che provocano una perdita di funzione e si manifestano con debolezza muscolare progressiva ad esordio precoce e formazione di corpi bastoncellari all'istologia. Abbiamo inoltre identificato due famiglie con una variante dominante eterozigote di TNNI1 (F4: p.R174Q e F5: p.K176del), che provoca un guadagno di funzione e si manifesta con crampi muscolari, mialgie e formazione di corpi bastoncellari in F5.

Negli zebrafish, le proteine TnI con una delle varianti missenso (p.R14H; p.R174Q) si integravano nei filamenti sottili. Le simulazioni di dinamica molecolare hanno suggerito che la variante a perdita di funzione p.R14H disaccoppia TnI da TnC, un'ipotesi supportata da studi funzionali che hanno mostrato una risposta contrattile ridotta dei sarcomeri a concentrazioni submassimali di  $[Ca^{2+}]$  nelle fibre muscolari dei pazienti. Questo deficit contrattile potrebbe essere invertito con un attivatore della troponina del muscolo scheletrico lento.

Al contrario, le fibre muscolari dei pazienti con la variante gain-of-function p.R174Q hanno mostrato un aumento della forza contrattile a concentrazioni submassimali di  $[Ca^{2+}]$ , che è stato invertito dal farmaco a piccole molecole mavacamten.



I nostri risultati dimostrano che le varianti di TNNI1 possono causare malattie muscolari con meccanismi patogenetici specifici per variante, manifestandosi come fenotipi ipo- o iper-contrattili, suggerendo strategie terapeutiche razionali per ciascun meccanismo.

Donkervoort S, van de Locht M, Ronchi D, Reunert J, McLean CA, Zaki M, Orbach R, de Winter JM, Conijn S, Hoomoedt D, Neto OLA, Magri F, Viaene AN, Foley AR, Gorokhova S, Bolduc V, Hu Y, Acquaye N, Napoli L, Park JH, Immadisetty K, Miles LB, Essawi M, McModie S, Ferreira LF, Zanutti S, Neuhaus SB, Medne L, ElBagoury N, Johnson KR, Zhang Y, Laing NG, Davis MR, Bryson-Richardson RJ, Hwee DT, Hartman JJ, Malik FI, Keken-Huskey PM, Comi GP, Sharaf-Eldin W, Marquardt T, Ravenscroft G, Bönnemann CG, Ottenheijm CAC. *Pathogenic TNNI1 variants disrupt sarcomere contractility resulting in hypo- and hypercontractile muscle disease.*

**Sci Transl Med.** 2024 Apr 3;16(741):eadg2841. doi: 10.1126/scitranslmed.adg2841. Epub 2024 Apr 3. PMID: 38569017.

## **2.2) Distrofie miotoniche: aggiornamento sulle caratteristiche cliniche, meccanismi molecolari, gestione e terapia genica**

Le distrofie miotoniche (DM) comprendono un gruppo di complessi disturbi genetici caratterizzati da debolezza muscolare progressiva con miotonia e coinvolgimento multisistemico. Questo articolo mira a sintetizzare i principali risultati e progressi nella comprensione delle DM, sottolineando l'importanza di un approccio multidisciplinare, che include consulenza genetica, cura clinica globale e gestione dei sintomi. Discutiamo le basi genetiche delle DM, evidenziando il ruolo delle espansioni ripetute nella patogenesi della malattia, oltre ai modelli cellulari e animali utilizzati per studiare i meccanismi delle DM e testare terapie potenziali. Le sfide diagnostiche, come la determinazione della dimensione delle espansioni patologiche e la valutazione del mosaicismo, sono affrontate insieme ai nuovi metodi emergenti di test genetici. Le strategie terapeutiche, principalmente per DM1, includono l'uso di piccole molecole, terapie basate sugli acidi nucleici (NATs) e interventi di ingegneria genomica/trascrittomica. Vengono esplorati i problemi legati alla somministrazione di tali terapie e alle risposte immunogeniche, con particolare attenzione alle strategie innovative, come i vettori virali e i sierotipi AAV. Sebbene non siano ancora disponibili trattamenti curativi, l'assistenza di supporto e palliativa rimane essenziale, con un focus sulla gestione delle complicazioni multisistemiche e sul mantenimento dell'indipendenza funzionale. L'esplorazione continua di questi progressi terapeutici offre speranza per una gestione più completa delle DM e per lo sviluppo di terapie potenzialmente curative per DM1 e disturbi correlati.

Rimoldi M, Lucchiari S, Pagliarani S, Meola G, Comi GP, Abati E.

*Myotonic dystrophies: an update on clinical features, molecular mechanisms, management, and gene therapy.*

**Neurol Sci.** 2024 Dec 7. doi: 10.1007/s10072-024-07826-9. Epub ahead of print. PMID: 39643839.

## **2.3) Rischio cardiaco e valutazione della fibrosi miocardica con risonanza magnetica cardiaca in pazienti con distrofia miotonica**

Introduzione: La valutazione non invasiva del tessuto miocardico è un obiettivo importante dell'imaging cardiaco, specialmente nel caso della fibrosi miocardica, che è cruciale in molte malattie miocardiche. È stato dimostrato che il volume extracellulare (ECV) cardiaco indica la fibrosi miocardica e il coinvolgimento cardiaco precoce. Con questo studio, il nostro obiettivo è valutare l'ECV misurato con la risonanza magnetica cardiaca (CMR) in pazienti con distrofia miotonica di tipo 1 (DM1) e 2 (DM2) come potenziale biomarcatore di imaging di patologia cardiaca subclinica e

la sua relazione con parametri demografici e clinici, misure derivate dall'ECG della conduzione cardiaca e stato delle performance neuromuscolari.

**Materiali e metodi:** Abbiamo analizzato retrospettivamente 18 pazienti con DM1 e 4 pazienti con DM2 senza evidenti malattie cardiache che avevano effettuato CMR presso il nostro centro. Le differenze tra le distribuzioni indipendenti sono state valutate utilizzando il test di Mann-Whitney U, mentre le correlazioni sono state valutate utilizzando il coefficiente di correlazione di Spearman ( $\rho$ ).

**Risultati:** L'ECV globale nei pazienti con DM1 (media 28,36; IQR 24,81-29,77) era significativamente più elevato ( $p = 0,0141$ ) rispetto ai pazienti con DM2 (media 22,93; IQR 21,25-24,35) e rispetto a quanto riportato in letteratura per i soggetti sani ( $p = 0,0374$ ; media 25,60; IQR 19,90-31,90). L'ECV settale era significativamente più alto ( $p = 0,0074$ ) nei pazienti con DM1 (media 27,37; IQR 25,97-29,74) rispetto ai pazienti con DM2 (mediana 22,46; IQR 21,57-23,19). L'ECV globale ha mostrato una forte correlazione positiva con l'ECV settale ( $\rho = 0,9282$ ,  $p < 0,0001$ ). Abbiamo osservato che le donne con DM1 mostravano valori di ECV globale ( $p = 0,0012$ ) e settale ( $p < 0,0001$ ) significativamente più alti rispetto agli uomini.

**Discussione:** Abbiamo riscontrato un significativo aumento dell'ECV cardiaco globale e settale nei pazienti con DM1. Questi valori potrebbero suggerire che i pazienti con DM1 presentano un rischio cardiovascolare aumentato, principalmente a causa della fibrosi cardiaca, anche in assenza di patologia cardiaca manifesta in altri esami cardiovascolari comuni. I pazienti con DM1 potrebbero anche essere a rischio maggiore di fibrosi settale precoce, con importanti implicazioni sul rischio di aritmie fatali. Inoltre, i nostri risultati suggeriscono la presenza di differenze legate al sesso, con le donne con DM1 più inclini alla fibrosi miocardica. I medici che trattano la DM1 potrebbero considerare la CMR come uno strumento di screening per l'identificazione precoce di pazienti con aumentato rischio cardiovascolare.

Abati E, Alberti C, Tambè V, Esseridou A, Comi GP, Corti S, Meola G, Secchi F.

*Cardiac risk and myocardial fibrosis assessment with cardiac magnetic resonance in patients with myotonic dystrophy.*

**Front Neurol.** 2024 Nov 21;15:1493570. doi: 10.3389/fneur.2024.1493570. PMID: 39639989; PMCID: PMC11617365.

#### **2.4) Una nuova variante di ACTA1 in un paziente con corpi nemalinici ed aumento della deposizione di glicogeno**

Le miopatie congenite sono un gruppo eterogeneo di disturbi ereditari, caratterizzati principalmente da ipotonia precoce e debolezza muscolare. Lo spettro fenotipico clinico può variare notevolmente, da presentazioni molto lievi a forme gravi. Anche il decorso è estremamente variabile, con esiti che vanno da prognosi fatali nei casi più severi a decorso benigno o miglioramenti significativi anche in presentazioni inizialmente gravi. L'analisi della biopsia muscolare è fondamentale per l'identificazione di caratteristiche morfologiche patognomoniche, come core centrali, corpi nemalinici o bastoncelli, centralizzazione nucleare e disproporzione delle fibre di tipo 1 congenite. Tuttavia, è possibile osservare multiple anomalie nello stesso muscolo, rendendo più complesso lo scenario miopatologico.

Descriviamo un neonato italiano con grave ipotonia, insufficienza respiratoria, incapacità di succhiare e deglutire, richiedendo ventilazione meccanica e alimentazione tramite gastrostomia. L'analisi della biopsia muscolare mediante microscopia ottica ha mostrato la presenza di vacuoli pieni di glicogeno, suggerendo una miopatia metabolica, oltre ad inclusioni fucsinofile. Gli studi ultrastrutturali hanno confermato la presenza di glicogeno normalmente strutturato e di piccoli "bastoncelli" (corpi nemalinici), orientando l'ipotesi diagnostica verso una miopatia nemalinica. L'analisi mediante sequenziamento di nuova generazione (Next Generation Sequencing) mirata ai geni delle miopatie

congenite ha rivelato la presenza di una nuova variante eterozigote c.965 T > A p.(Leu322Gln) nel gene ACTA1, che codifica per l'alfa-actina muscolare scheletrica.

Questo studio amplia il repertorio delle caratteristiche molecolari e patologiche osservate nelle actinopatie. Sottolineiamo il valore dell'esame ultrastrutturale per indagare le anomalie rilevate a livello istologico. Evidenziamo inoltre l'importanza dell'utilizzo di pannelli genetici estesi nell'analisi molecolare dei pazienti neuromuscolari, soprattutto in presenza di alterazioni biotipiche multiple.

Piga D, Rimoldi M, Magri F, Zanotti S, Napoli L, Ripolone M, Pagliarani S, Ciscato P, Velardo D, D'Amico A, Bertini E, Comi GP, Ronchi D, Corti S.

*Case report: A novel ACTA1 variant in a patient with nemaline rods and increased glycogen deposition.*

**Front Neurol.** 2024 Mar 4;15:1340693. doi: 10.3389/fneur.2024.1340693. PMID: 38500810; PMCID: PMC10944937.

## **2.5) Un nuovo caso di distrofia muscolare dei cingoli correlata a varianti nel gene TRIM32**

La distrofia muscolare dei cingoli autosomica recessiva 8 (LGMDR8) è una rara manifestazione clinica causata dalla presenza di varianti bialleliche nel gene TRIM32. Presentiamo i dati clinici, molecolari, istopatologici e della risonanza magnetica muscolare di un nuovo paziente LGMDR8 di 63 anni, di origini italiane, rimasto senza diagnosi per 24 anni.

Il sequenziamento dell'esoma clinico ha identificato due varianti missenso nel gene TRIM32: c.1181G > A p.(Arg394His) e c.1781G > A p.(Ser594Asp), localizzate rispettivamente nei domini strutturali NHL1 e NHL4 della proteina TRIM32.

Abbiamo condotto una revisione della letteratura sui dati clinici e strumentali associati alle 26 varianti di TRIM32 finora conosciute, presenti biallelicamente in 53 pazienti LGMDR8 riportati in 20 articoli scientifici. Le varianti del nostro paziente erano state precedentemente identificate solo in tre pazienti LGMDR8 indipendenti in omozigosi; il nostro caso è quindi il primo in letteratura descritto come eterozigote composto per queste varianti.

Il nostro rapporto fornisce inoltre dati aggiuntivi a sostegno della loro patogenicità, poiché p.(Arg394His) è attualmente classificata come variante di significato incerto, mentre p.(Ser594Asp) è considerata probabilmente patogena.

Nel complesso, questi risultati potrebbero essere utili per migliorare sia la consulenza genetica sia 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, Ronchi D.

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

**Front Neurol.** 2024 Jan 18;14:1281953. doi: 10.3389/fneur.2023.1281953. PMID: 38304327; PMCID: PMC10831852.

## **2.6) Varianti bialleliche in POPDC2 causa una nuova sindrome autosomica recessiva caratterizzata da difetti di conduzione cardiaca e cardiomiopatia ipertrofica variabile**

POPDC2 codifica per la proteina 2 contenente il dominio Popeye, che svolge un ruolo importante nella conduzione e nel ritmo cardiaco, in parte grazie al legame e alla regolazione dipendente da cAMP dei canali del potassio TREK-1. La perdita di Popdc2 nei topi provoca pause nel ritmo sinusale e bradicardia, mentre il knockdown tramite morfolino di popdc2 negli zebrafish causa blocco atrioventricolare (AV).

Abbiamo identificato varianti bialleliche in POPDC2 in 4 famiglie che presentavano uno spettro fenotipico composto da disfunzione del nodo del seno, difetti di conduzione AV e cardiomiopatia ipertrofica. Attraverso modelli di omologia, abbiamo dimostrato che le varianti identificate di

POPDC2 sono associate a una ridotta capacità della proteina POPDC2 di legarsi al cAMP. Studi elettrofisiologici in vitro hanno dimostrato che, mentre la co-espressione wild-type di POPDC2 con TREK-1 aumenta la densità di corrente di TREK-1, le varianti di POPDC2 presenti nei pazienti non sono in grado di aumentare questa densità di corrente.

Sebbene le biopsie muscolari dei pazienti non abbiano mostrato chiari segni di malattia miopatica, hanno evidenziato una significativa riduzione dell'espressione sia di POPDC1 che di POPDC2, suggerendo che la stabilità e/o il traffico di membrana del complesso POPDC1-POPDC2 è compromesso dalle varianti patogene in una delle due proteine.

L'analisi mediante sequenziamento dell'RNA a singola cellula su cuori umani ha dimostrato che la co-espressione di POPDC1 e POPDC2 è più prevalente nelle cellule del nodo AV, del pacemaker AV e del fascio di His. Le cellule del nodo senoatriale esprimono abbondantemente POPDC2, mentre l'espressione di POPDC1 è scarsa. Questi risultati concordano con una predisposizione a malattie del nodo AV negli esseri umani con varianti loss-of-function in POPDC1 e POPDC2 e con la presenza di malattie del nodo senoatriale in caso di perdita di POPDC2, ma non in caso di malattia correlata a POPDC1.

Utilizzando dati genetici a livello di popolazione provenienti da oltre 1 milione di individui, abbiamo dimostrato che nessuna delle varianti familiari era associata a esiti clinici in eterozigosi, suggerendo che i membri eterozigoti della famiglia hanno una bassa probabilità di sviluppare manifestazioni cliniche e pertanto potrebbero non necessitare di un follow-up clinico.

I nostri risultati forniscono prove che POPDC2 è la causa di una nuova sindrome cardiaca mendeliana autosomica recessiva, coerente con studi precedenti che dimostrano come topi e zebrafish carenti di POPDC2 funzionale mostrino disfunzioni del nodo senoatriale e del nodo AV.

Nicastro M, Vermeer AMC, Postema PG, Tadros R, Bowling FZ, Aegisdottir HM, Tragante V, Mach L, Postma AV, Lodder EM, van Duijvenboden K, Zwart R, Beekman L, Wu L, van der Zwaag PA, Alders M, Allouba M, Aguib Y, Santomel JL, de Una D, Monserrat L, Miranda AMA, Kanemaru K, Cranley J, van Zeggeren IE, Aronica EMA, Ripolone M, Zanolini S, Sveinbjornsson G, Ivarsdottir EV, Hólm H, Guðbjartsson DF, Skúladóttir ÁT, Stefánsson K, Nadauld L, Knowlton KU, Ostrowski SR, Sørensen E, Vesterager Pedersen OB, Ghouse J, Rand S, Bundgaard H, Ullum H, Erikstrup C, Aagaard B, Bruun MT, Christiansen M, Jensen HK, Carere DA, Cummings CT, Fishler K, Tøring PM, Brusgaard K, Juul TM, Saaby L, Winkel BG, Mogensen J, Fortunato F, Comi GP, Ronchi D, van Tintelen JP, Nosedà M, Airola MV, Christiaans I, Wilde AAM, Wilders R, Clur SA, Verkerk AO, Bezzina CR, Lahrouchi N.

*Biallelic variants in POPDC2 cause a novel autosomal recessive syndrome presenting with cardiac conduction defects and variable hypertrophic cardiomyopathy.*

**medRxiv** [Preprint]. 2024 Jul 5:2024.07.04.24309755. doi: 10.1101/2024.07.04.24309755. PMID: 39006410; PMCID: PMC11245065.

## **2.7) Associazione tra ZASP/LDB3 Pro26Ser e la Miopatia da Corpi di Inclusione**

La miopatia da corpi di inclusione (IBM) è un disturbo lentamente progressivo che rientra nelle miopatie infiammatorie idiopatiche ed è la miopatia acquisita ad insorgenza adulta più comune. Le principali caratteristiche cliniche includono debolezza muscolare asimmetrica prossimale o distale, con un maggiore coinvolgimento dei flessori lunghi delle dita e degli estensori del ginocchio. I principali reperti istologici comprendono infiltrazioni all'interno delle fibre muscolari, vacuoli bordati e inclusioni amiloidi. L'eziopatogenesi della malattia è complicata da comprendere, poiché sia fattori ambientali sia genetici sono implicati nella degenerazione muscolare; infatti, in letteratura è stata fatta una distinzione tra forme sporadiche ed ereditarie. In questo lavoro è stato descritto un paziente italiano affetto da una forma ereditaria di IBM con esordio intorno ai quarantacinque anni.

L'analisi del sequenziamento di nuova generazione ha rivelato una mutazione eterozigote c.76C>T (p.Pro26Ser) nel dominio PDZ del gene LDB3/ZASP, una mutazione già descritta in una famiglia con miopatia ad insorgenza tardiva e con una manifestazione altamente diversificata della debolezza muscolare scheletrica. Nella biopsia muscolare del probando, l'espressione di ZASP, miotilina e desmina erano aumentate. Nella nostra famiglia, oltre ad un'età di esordio più precoce, il quadro clinico era peculiare anche per la presenza, in uno dei membri affetti, di una oftalmoplegia completa dello sguardo verticale. Questi risultati contribuiscono ad ampliare la conoscenza del contesto clinico e genetico associato ai disturbi miopatici da corpi di inclusione.

Piga D, Zanotti S, Ripolone M, Napoli L, Ciscato P, Gibertini S, Maggi L, Fortunato F, Rigamonti A, Ronchi D, Comi GP, Corti S, Sciacco M.

*Association between ZASP/LDB3 Pro26Ser and Inclusion Body Myopathy.*

**Int J Mol Sci.** 2024 Jun 14;25(12):6547. doi: 10.3390/ijms25126547. PMID: 38928252; PMCID: PMC11203685.

## **2.8) Analisi multi-approccio in un caso di miotonia congenita valutata clinicamente**

La Miotonia congenita, sia nella forma dominante (malattia di Thomsen) sia in quella recessiva (malattia di Becker), è causata da difetti molecolari nel gene *CLCN1*, che codifica per il principale canale del cloro nei muscoli scheletrici, ClC-1. Questo canale è essenziale per la normale ripolarizzazione dei potenziali d'azione muscolari e per il rilassamento muscolare conseguente; la sua disfunzione comporta la compromissione del rilassamento muscolare dopo contrazioni volontarie o indotte, causando rigidità muscolare. Sono state identificate oltre 300 varianti patogenetiche di *CLCN1* associate alla miotonia congenita, ereditate come tratti recessivi o dominanti (con penetranza completa o incompleta). In questo studio, descriviamo il caso di una donna di 44 anni che riferiva "rigidità alle gambe" fin dall'età di 20 anni e presentava debolezza muscolare transitoria, soprattutto dopo essere rimasta seduta per diversi minuti, con miotonia alle mani e ai piedi, sensibile al freddo e alleviata dal riscaldamento muscolare. La forza muscolare era normale, ma era evidente ipertrofia muscolare agli arti inferiori. La miotonia è stata rilevata mediante EMG in tutti i muscoli esaminati. Il padre della paziente aveva subito una correzione precoce della cataratta, ma non presentava scariche miotoniche all'EMG. L'esame dei figli della paziente (di 18 e 12 anni) non ha evidenziato anomalie. La paziente ha iniziato un trattamento con mexiletina, con miglioramenti della miotonia da presa e della rigidità degli arti, ma il trattamento è stato presto interrotto a causa di disturbi gastrointestinali. Il sequenziamento diretto del gene *CLCN1* ha identificato la variante intronica eterozigote precedentemente descritta c.1471+1G>A, che ha determinato l'exon-skipping dell'esone 13 nel trascritto muscolare del gene. Inoltre, è stata identificata la variante sinonima eterozigote rara c.762C>T p.Cys254Cys, che si prevede alteri lo splicing fisiologico. La rilevazione di multiple anomalie di splicing, che portano a codoni di stop prematuri, ha supportato le previsioni *in silico*. Abbiamo sviluppato un saggio Western blot per valutare la proteina ClC-1 in una biopsia muscolare e osservato livelli consistentemente ridotti di ClC-1 nel muscolo della paziente, confermando il comportamento patogenetico delle varianti identificate. In sintesi, riportiamo un nuovo caso di miotonia di Becker e sottolineiamo l'importanza di un'analisi multilivello per raggiungere una diagnosi molecolare definitiva.

Lucchiari S, Fortunato F, Meola G, Mignarri A, Pagliarani S, Corti S, Comi GP, Ronchi D. Case report:

*Multiple approach analysis in a case of clinically assessed myotonia congenita.*

**Front Genet.** 2024 Dec 6;15:1486977. doi: 10.3389/fgene.2024.1486977. PMID: 39712484; PMCID: PMC11659273.

## **2.9) Miopatia congenita causata da varianti in CACNA1S: nuovo fenotipo associato a paralisi periodica ad esordio precoce**

**Introduzione:** La miopatia congenita associata al gene CACNA1S è un'entità emergente descritta recentemente. In questo report, presentiamo due sorelle con mutazioni nel gene CACNA1S che presentano un nuovo fenotipo di miopatia congenita con episodi di debolezza episodica ad esordio infantile.

**Descrizione clinica:** Entrambe le sorelle presentavano ipotonia neonatale, debolezza muscolare e ritardo nel camminare. La debolezza episodica è iniziata nell'infanzia e si è protratta nel tempo, scatenata principalmente dall'esposizione al freddo. L'imaging muscolare ha rivelato una sostituzione adiposa nei muscoli glutei massimi. Il sequenziamento di nuova generazione ha identificato la variante missenso p.Cys944Tyr e la nuova variante di splicing c.3526-2A>G in CACNA1S. La costruzione di un minigene ha dimostrato che la variante di splicing causa lo skipping dell'esone 28 dal trascritto, influenzando potenzialmente il folding della proteina e/o l'attivazione dipendente dal voltaggio.

**Conclusione:** Questo nuovo fenotipo supporta l'ipotesi che esistano differenze legate all'età nell'espressione clinica delle mutazioni del gene CACNA1S. Questi risultati ampliano la comprensione delle varianti localizzate in regioni di CACNA1S diverse dal segmento S4 dove sono state identificate la maggior parte delle mutazioni studiate finora.

Aburahma SK, Rousan LA, Shboul M, Biella F, Lucchiari S, Comi GP, Meola G, Pagliarani S.

Case report: Dihydropyridine receptor (CACNA1S) congenital myopathy, a novel phenotype with early onset periodic paralysis. *Front Neurol.* 2024 Feb 15;15:1359479. doi: 10.3389/fneur.2024.1359479. PMID: 38426167; PMCID: PMC10902085.

## **2.10) Uno studio sulla Distrofia Miotonica di tipo 2, esacerbata dalla ripresa della attività fisica dopo il lockdown dovuto alla pandemia da COVID-19.**

La distrofia miotonica di tipo 2 (DM2; PROMM) è caratterizzata da miotonia e alterazioni muscolari con dolore muscolare episodico e debolezza assiale e prossimale, ai muscoli flessori del collo e dell'anca. Descriviamo il caso di una giovane donna affetta da una forma clinicamente silente di DM2, resa manifesta dalla ripresa dell'esercizio fisico post COVID lockdown.

La paziente, giunta in Pronto Soccorso a causa di crampi e forte dolore muscolare, è stata sottoposta a visita neurologica, dosaggio delle CL ed elettromiografia. I sintomi sono comparsi a seguito della prima lunga passeggiata dopo forzata inattività. Al sospetto di diagnosi DM2, è stata condotta l'analisi molecolare del gene *CNBP* sulla paziente e sui familiari.

I segni clinici erano debolezza muscolare generalizzata, più evidente agli arti inferiori, miotonia alle mani e alle dita dei piedi e aumento drammatico delle CK. Il test genetico ha rilevato le espansioni patologiche nell'introne 1 del gene, caratteristiche della malattia.

Il caso in esame risulta essere il primo riportato riguardante l'impatto della pandemia sui pazienti DM2. Abbiamo approfondito il ruolo dell'esercizio fisico nel modulare l'esordio e la gravità delle manifestazioni cliniche, dal momento che un esercizio fisico regolare e opportunamente dosato è in grado di mascherare la malattia stessa, mentre il passaggio dalla forzata inattività alla ripresa improvvisa di un'attività sostenuta può produrre un notevole danno muscolare. Studi recenti hanno esplorato l'alterazione di pathway molecolari verosimilmente coinvolti e ulteriori osservazioni di soggetti miopatici e anziani aiuterà a chiarire i meccanismi cellulari e tissutali sottostanti, consentendo un migliore counselling al paziente DM2.

Sabrina Lucchiari, Francesca Magri, Martina Rimoldi, Serena Pagliarani, Stefania Corti, Giacomo P. Comi, Monica Sciacco.

Accepted for Publication, Dec 2025, **Acta Miologica**

### **2.11) Un nuovo caso di miopatia da accumulo di corpi poliglucosanici a insorgenza tardiva dovuta a mutazioni di *GYG1*: descrizione di un caso clinico e revisione della letteratura**

I corpi poliglucosanici (Polyglucosan bodies, PBs) sono depositi di polisaccaridi simili all'amilopectina, rilevati nei muscoli di pazienti affetti da glicogenosi come le carenze dell'enzima ramificante e della fosfofruttochinasi. Varianti patogeniche con ereditarietà autosomica recessiva nei geni GBE1, RBCK1 e GYG1, codificanti per la glicogenina-1, sono state in precedenza associate a una miopatia scheletrica con PBs. Finora, solo pochi casi con mutazioni in GYG1 sono stati segnalati. I pazienti con mutazioni in GYG1 presentano un'età d'insorgenza variabile (dall'infanzia alla settima decade), debolezza prevalentemente prossimale, livelli normali di creatinichinasi ed elettromiografia miopatica.

In questo studio abbiamo presentato i risultati clinici, istologici e molecolari di un nuovo caso italiano di miopatia con PBs.

La nostra paziente è una donna di 79 anni con esordio subacuto di dolore diffuso, debolezza agli arti superiori e atrofia muscolare generalizzata senza coinvolgimento cardiaco o respiratorio. L'elettromiografia ha mostrato caratteristiche miopatiche.

La biopsia muscolare ha rivelato diverse fibre muscolari di tipo I contenenti vacuoli intensamente positivi al PAS, resistenti alla diastasi e di dimensioni variabili. L'analisi ultrastrutturale ha evidenziato vacuoli con materiale di accumulo granulare-fibrillare localizzati nelle aree subsarcolemmali e intermiofibrillari, piccole quantità di glicogeno libero e un aspetto irregolare della linea Z in alcuni sarcomeri. Questi risultati sono stati coerenti con la malattia da corpi di poliglucosano.

Il sequenziamento dell'esoma clinico ha identificato due varianti eterozigoti in GYG1: c.143+3G>C e c.487delG. Le varianti risultavano rare e classificate come patogeniche secondo i criteri ACMG. Ciascuna variante era stata precedentemente rilevata in omozigosi in pazienti con miopatia da PBs di tipo 2.

I nostri risultati forniscono una caratterizzazione clinica e molecolare di un nuovo caso di miopatia da PBs correlata a GYG1 e mettono in evidenza i segni istologici che portano alla diagnosi di questo raro fenotipo clinico.

## **3) MALATTIE DEL MOTONEURONE**

### **3.1) Indagine sulla prevalenza delle mutazioni del gene MFN2 nella sclerosi laterale amiotrofica: approfondimenti da una coorte italiana**

Il gene MFN2 codifica per la mitofusina 2, una proteina chiave per la fusione mitocondriale, il trasporto, la manutenzione e la comunicazione cellulare. Le mutazioni di MFN2 sono principalmente associate alla malattia di Charcot-Marie-Tooth di tipo 2A. Tuttavia, alcuni casi di fenotipi di sclerosi laterale amiotrofica (SLA) e di sclerosi laterale amiotrofica/demenza frontotemporale (SLA/DFT) con mutazioni concomitanti di MFN2 sono stati precedentemente riportati.

Questo studio esamina le caratteristiche cliniche e genetiche di una coorte italiana di pazienti con sclerosi laterale amiotrofica e rare mutazioni non sinonime del gene MFN2. Un gruppo di pazienti (n = 385) con SLA diagnosticati presso le nostre Unità di Neurologia tra il 2008 e il 2023 è stato sottoposto a test molecolari completi, incluso l'analisi di MFN2. Dopo aver escluso mutazioni patogenetiche nei principali geni associati alla SLA (i.e., C9orf72, SOD1, FUS e TARDBP), le varianti di MFN2 sono state classificate secondo le linee guida dell'American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). I dati demografici e clinici dei pazienti con mutazioni di MFN2 sono stati raccolti e analizzati.

Abbiamo identificato 12 varianti rare, eterozigoti e non sinonime di MFN2 in 19 individui (4,9%). Otto di queste varianti, presenti in nove pazienti (2,3%), sono state classificate come patogenetiche, probabilmente patogenetiche o varianti di significato incerto, secondo le linee guida ACMG. Tra questi pazienti, quattro presentavano un pattern ereditario familiare. I fenotipi osservati includevano SLA classica e bulbare, SLA/DFT, sindrome del braccio flaccido, sindrome della gamba flaccida e atrofia muscolare progressiva. La sopravvivenza media dopo l'insorgenza della malattia è risultata estremamente variabile, oscillando da meno di 1 anno a 13 anni.

Questo studio indaga la prevalenza di rare varianti non sinonime di MFN2 in una coorte italiana di pazienti con SLA, accuratamente studiata, ampliando le conoscenze sullo spettro fenotipico sottostante. Ulteriori ricerche sono necessarie per comprendere se e in che misura le mutazioni di MFN2 contribuiscano alla malattia dei motoneuroni. Migliorare la comprensione delle basi genetiche della SLA è cruciale sia in una prospettiva diagnostica che terapeutica.

Abati E, Gagliardi D, Manini A, Del Bo R, Ronchi D, Meneri M, Beretta F, Sarno A, Rizzo F, Monfrini E, Di Fonzo A, Pellecchia MT, Brusati A, Silani V, Comi GP, Ratti A, Verde F, Ticozzi N, Corti S.

*Investigating the prevalence of MFN2 mutations in amyotrophic lateral sclerosis: insights from an Italian cohort.*

**Brain Commun.** 2024 Sep 23;6(5):fcae312. doi: 10.1093/braincomms/fcae312. PMID: 39315308; PMCID: PMC11417610.

### **3.2) Trattamento precoce dell'atrofia muscolare spinale dopo lo screening neonatale: una revisione di 20 mesi della prima esperienza regionale italiana**

Lo screening neonatale obbligatorio (NBS) per l'atrofia muscolare spinale (SMA) è stato implementato per la prima volta in Italia alla fine del 2021, permettendo l'identificazione e il trattamento dei pazienti in una fase asintomatica.

I campioni di DNA estratti da gocce di sangue essiccato (DBS) prelevati dai neonati della regione Puglia sono stati analizzati per lo screening della SMA utilizzando un test basato sulla real-time PCR. I neonati con delezione omozigote dell'esone 7 del gene SMN1, confermata da test molecolari diagnostici, sono stati sottoposti a valutazioni cliniche e neurofisiologiche e hanno ricevuto un trattamento tempestivo.

Nei primi 20 mesi dall'introduzione dello NBS regionale, quattro bambini su 42.492 (0,009%) sottoposti a screening sono risultati portatori di una delezione omozigote dell'esone 7 del gene SMN1, con un'incidenza annuale di 1:10.623. Non sono stati rilevati falsi negativi. L'età media alla diagnosi era di 7 giorni, mentre l'età media al trattamento era di 20,5 giorni. Tre di loro avevano due copie del gene SMN2 e hanno ricevuto una terapia genica, mentre il bambino con tre copie di SMN2 è stato trattato con nusinersen. Tutti, tranne uno, erano asintomatici alla nascita, non hanno mostrato segni clinici di malattia dopo un follow-up massimo di 16 mesi e hanno raggiunto tappe motorie adeguate alla loro età. L'intervallo minimo tra la diagnosi e l'inizio del trattamento è stato di 9 giorni.

La somministrazione tempestiva di terapie modificanti la malattia ha prevenuto lo sviluppo di sintomi nei soggetti presintomatici. Lo screening neonatale obbligatorio per la SMA dovrebbe essere implementato su scala nazionale.

Gagliardi D, Canzio E, Orsini P, Conti P, Sinisi V, Maggiore C, Santarsia MC, Lagioia G, Lupis G, Roppa I, Scianatico G, Mancini D, Corti S, Comi GP, Gentile M, Gagliardi D.

*Early spinal muscular atrophy treatment following newborn screening: A 20-month review of the first Italian regional experience.*



### **3.3) Sonno e disturbi respiratori correlati al sonno nei pazienti con atrofia muscolare spinale: una prospettiva in evoluzione grazie a nuovi trattamenti?**

L'atrofia muscolare spinale (SMA) è un disturbo neuromuscolare ereditario caratterizzato da debolezza muscolare progressiva e atrofia, causate dalla degenerazione dei motoneuroni nel midollo spinale. Un aspetto critico della SMA è il suo impatto sulla funzione respiratoria. Con il progredire della malattia, i muscoli respiratori, in particolare i muscoli intercostali, vengono sempre più colpiti, portando a difficoltà respiratorie e insufficienza respiratoria. Senza intervento, molti bambini con SMA di tipo 1 muoiono per insufficienza respiratoria prima del secondo anno di vita. Sebbene la ventilazione assistita abbia migliorato la sopravvivenza, spesso comporta dipendenza dal ventilatore. Lo sviluppo di nuove terapie che potenziano il gene SMN ha rinnovato l'ottimismo, ma il loro impatto a lungo termine sulla funzione respiratoria rimane incerto, e il supporto respiratorio non invasivo continua a essere una parte fondamentale della gestione della SMA.

Nonostante l'importanza del supporto respiratorio nella SMA, le conoscenze sui disturbi del sonno in questa popolazione sono limitate. Questa revisione si propone di sintetizzare la letteratura esistente sul sonno e sui disturbi respiratori correlati al sonno nei pazienti con SMA, con un focus particolare sulla SMA di tipo 1. Riassumiamo le evidenze relative ai disturbi respiratori del sonno e all'insufficienza respiratoria nella SMA, oltre agli esiti e ai benefici di sopravvivenza associati alla ventilazione non invasiva o invasiva, con o senza terapie farmacologiche. Discutiamo inoltre le conoscenze attuali sugli effetti delle nuove terapie che modificano la malattia SMA sulla funzione respiratoria e sul sonno.

In conclusione, l'assistenza ottimale per i bambini con SMA richiede un approccio multidisciplinare che includa specialisti in neurologia e respirazione. Questa revisione sottolinea l'importanza di monitorare il sonno e la funzione respiratoria nella SMA, oltre ai potenziali benefici e alle sfide legate alla ventilazione assistita combinata con nuove terapie.

Abati E, Mauri E, Rimoldi M, Madini B, Patria F, Comi GP, Corti S.

Sleep and sleep-related breathing disorders in patients with spinal muscular atrophy: a changing perspective from novel treatments?

Front Neurol. 2024 Jun 4;15:1299205. doi: 10.3389/fneur.2024.1299205. PMID: 38895692; PMCID: PMC11184139.

### **3.4) Sfruttare i livelli di NfL, CHIT1 e miR-181b nel fluido cerebrospinale come potenziali biomarcatori diagnostici e prognostici per la SLA**

La sclerosi laterale amiotrofica (SLA) è una rara malattia neurodegenerativa caratterizzata dalla perdita progressiva e inarrestabile dei motoneuroni. Una diagnosi molecolare, supportata dall'identificazione di biomarcatori specifici, potrebbe favorire la definizione di sottotipi biologici della SLA, migliorando la stratificazione dei pazienti e fornendo informazioni prognostiche.

In questo studio, abbiamo analizzato i livelli di neurofilamento a catena leggera (NfL), chitotriosidasi (CHIT1) e microRNA-181b (miR-181b) nel liquido cerebrospinale (CSF) di soggetti affetti da SLA (N = 210), nonché di controlli neurologicamente sani e con altre malattie neurologiche (N = 218, di cui N = 74 con altre malattie neurodegenerative), appartenenti a una vasta coorte multicentrica europea. L'obiettivo era valutare l'utilità specifica o combinata di questi biomarcatori come strumenti diagnostici e prognostici.

I livelli di NfL, CHIT1 e miR-181b sono risultati significativamente più elevati nei soggetti con SLA rispetto ai controlli, con NfL che ha dimostrato la migliore performance diagnostica. Importante, tutti

e tre i biomarcatori sono risultati aumentati rispetto ai controlli con altre malattie neurodegenerative e, in particolare, rispetto ai pazienti con malattia di Alzheimer (AD; N = 44). Inoltre, NfL e CHIT1 sono risultati superiori nei pazienti con SLA rispetto a quelli con alfa-sinucleinopatie (N = 22).

Degno di nota, i pazienti con SLA hanno mostrato livelli aumentati di CHIT1 nonostante una maggiore prevalenza, rispetto ai controlli, di un polimorfismo che riduce l'espressione di questo biomarcatore.

Sebbene non sia stata trovata alcuna correlazione tra i livelli di miR-181b nel CSF e le misure cliniche della SLA (durata della malattia, disabilità funzionale e velocità di progressione), il NfL nel CSF si è rivelato il miglior predittore indipendente di progressione della malattia e sopravvivenza.

Questo studio approfondisce la conoscenza sui biomarcatori della SLA, evidenziando la relativa specificità di CHIT1 per la SLA tra le malattie neurodegenerative e valutando la potenziale utilità diagnostica del miR-181b nel CSF.

Gagliardi D, Rizzuti M, Masrori P, Saccomanno D, Del Bo R, Sali L, Meneri M, Scarcella S, Milone I, Hersmus N, Ratti A, Ticozzi N, Silani V, Poesen K, Van Damme P, Comi GP, Corti S, Verde F. *Exploiting the role of CSF NfL, CHIT1, and miR-181b as potential diagnostic and prognostic biomarkers for ALS.*

**J Neurol.** 2024 Dec;271(12):7557-7571. doi: 10.1007/s00415-024-12699-1. Epub 2024 Sep 28. PMID: 39340541; PMCID: PMC11588799.

### **3.5) Il test del cammino di sei minuti come misura dell'outcome della faticabilità negli adulti con atrofia muscolare spinale trattati con nusinersen**

La fatica (percezione soggettiva) e la faticabilità (peggioramento oggettivo della performance motoria) sono aspetti rilevanti della disabilità negli individui con atrofia muscolare spinale (SMA). L'effetto di nusinersen sulla faticabilità nei pazienti con SMA è stato studiato con risultati contrastanti. Il nostro obiettivo è stato valutare la faticabilità negli adulti con SMA di tipo 3 (SMA3).

Abbiamo condotto uno studio multicentrico retrospettivo di coorte, includendo pazienti adulti deambulanti con SMA3, con dati disponibili sul test del cammino di sei minuti (6MWT) e sulla scala motoria funzionale di Hammersmith espansa (HFMSE) al basale e almeno dopo 6 mesi di trattamento con nusinersen. La faticabilità è stata stimata come una diminuzione del 10% o superiore della distanza percorsa tra il primo e il sesto minuto del 6MWT, valutata al basale e durante un follow-up di 14 mesi.

Sono stati inclusi 48 pazienti (56% donne). Il 6MWT è migliorato dopo 6, 10 e 14 mesi di trattamento ( $p < 0.05$ ). Dei 27 pazienti che hanno completato l'intero follow-up, il 37% ha mostrato un miglioramento (aumento della distanza  $\geq 30$  m), il 48,2% è rimasto stabile e il 14,8% ha mostrato un peggioramento (riduzione della distanza  $\geq 30$  m). La faticabilità è stata riscontrata al basale in 26/38 (68%) pazienti ed è stata confermata nei punti temporali successivi ( $p < 0.05$ ) senza cambiamenti significativi durante il periodo di trattamento. Non è stata osservata alcuna correlazione tra faticabilità e numero di copie di SMN2, sesso, età di esordio della malattia, età al basale, né con la distanza totale del 6MWT o il punteggio HFMSE al basale.

La faticabilità è stata rilevata al basale in circa 2/3 dei pazienti deambulanti con SMA3, senza alcuna correlazione con le caratteristiche cliniche, inclusa la performance motoria. Durante il periodo di trattamento di 14 mesi con nusinersen, non è stato osservato alcun effetto sulla faticabilità.

Govoni A, Ricci G, Bonanno S, Bello L, Magri F, Meneri M, Torri F, Caponnetto C, Passamano L, Grandis M, Trojsi F, Cerri F, Gadaleta G, Capece G, Caumo L, Tanel R, Sacconi E, Vacchiano V, Sorarù G, D'Errico E, Tramacere I, Bortolani S, Rolle E, Gellera C, Zanin R, Silvestrini M, Politano L, Schenone A, Previtali SC, Berardinelli A, Turri M, Verriello L, Coccia M, Mantegazza R, Liguori

R, Filosto M, Maioli MA, Simone IL, Mongini T, Corti S, Manca ML, Pegoraro E, Siciliano G, Comi GP, Maggi L.

*Six-minute walk test as outcome measure of fatigability in adults with spinal muscular atrophy treated with nusinersen.*

**Muscle Nerve.** 2024 Oct;70(4):816-823. doi: 10.1002/mus.28225. Epub 2024 Aug 2. PMID: 39096012.

### **3.6) Mutazioni intrageniche di SMN1 in una coorte di pazienti italiani con SMA**

L'atrofia muscolare spinale (SMA) è un disturbo dei motoneuroni causato da mutazioni recessive nel gene SMN1, che codifica per la proteina "Survival Motor Neuron" (SMN). La maggior parte dei pazienti con SMA presenta delezioni omozigoti di SMN1, mentre il numero di copie di SMN2 predice il sottotipo clinico (SMA-I, -II, -III). Una minoranza (3-5%) dei pazienti SMA presenta piccole mutazioni sul secondo allele.

Negli ultimi 15 anni, abbiamo ottenuto una diagnosi molecolare in una coorte di 147 pazienti italiani con SMA. La delezione omozigote di SMN1 è stata rilevata in 140 probandi (95,2%).

In 7 pazienti, la delezione eterozigote di SMN1 era in compound con una mutazione puntiforme. Un allele nullo è stato osservato in 3 casi di SMA-I: c.469C>T (p.Q157\*), c.888+1G>C, c.511G>T (p.E171\*). La mutazione missenso c.389A>G (p.Y130C) è stata trovata in un paziente con SMA-III, mentre la sostituzione c.815A>G (p.Y272C) è stata osservata in 3 probandi (1 SMA-I, 2 SMA-II). La variante Y130C è stata precedentemente associata a presentazioni di SMA-III, indipendentemente dal numero di copie di SMN2. Al contrario, Y272C compromette gravemente l'oligomerizzazione e la funzione di SMN.

Il sequenziamento diretto dell'esone 7 di SMN2 ha rilevato la variante modificatrice c.859G>C in 4 soggetti con SMA-III (2,5% della nostra coorte di pazienti con delezione di SMN1) con 2 copie di SMN2. Questa trasversione dovrebbe aumentare la produzione di trascritti a lunghezza completa provenienti dagli alleli SMN2. L'esordio tardivo e il decorso clinico lieve dei portatori di c.859G>C nella nostra coorte supportano questa conclusione.

Il comportamento delle mutazioni puntiformi in SMN1/SMN2 è eterogeneo e richiede una convalida appropriata. L'identificazione di piccole mutazioni nei pazienti con SMA è importante per migliorare la diagnosi e la prognosi, chiarire la variabilità di risposta ai trattamenti disponibili e progettare nuove terapie mirate a queste mutazioni peculiari.

## **4) ALTRE PATOLOGIE / RICERCHE**

### **4.1) Sfruttare il potenziale delle terapie a mRNA per le malattie neurologiche ereditarie**

Le malattie neurologiche monogeniche da perdita di funzione sono disturbi ereditari causati da mutazioni geniche che riducono o annullano la normale funzione della proteina codificata. Queste condizioni rappresentano una significativa sfida terapeutica, che potrebbe essere affrontata attraverso lo sviluppo di strategie terapeutiche innovative. Le tecnologie basate sull'RNA, come la terapia di sostituzione dell'mRNA, stanno emergendo come trattamenti promettenti e sempre più attuabili. In particolare, la terapia con mRNA mostra un potenziale significativo come approccio agnostico rispetto alle mutazioni, in grado di trattare virtualmente qualsiasi malattia monogenica da perdita di funzione. L'mRNA terapeutico trasporta l'informazione per una copia funzionante della proteina difettosa, bypassando il problema del targeting di specifiche varianti genetiche. Inoltre, a differenza della terapia genica convenzionale, i farmaci a base di mRNA vengono somministrati attraverso un processo semplificato che richiede solo il trasferimento al citoplasma, riducendo così i rischi mutagenici legati all'integrazione del DNA. La terapia con mRNA esercita inoltre un effetto

transitorio sulle cellule bersaglio, minimizzando il rischio di conseguenze indesiderate a lungo termine.

Il notevole successo della tecnologia mRNA nello sviluppo dei vaccini contro il COVID-19 ha riaperto l'interesse per l'mRNA come metodo conveniente per fornire proteine terapeutiche. Tuttavia, sono necessari ulteriori perfezionamenti per migliorare la somministrazione dell'mRNA, in particolare al sistema nervoso centrale (SNC), e per minimizzare le reazioni avverse e la tossicità. In questa revisione completa, esploriamo le applicazioni passate, presenti e in corso della terapia con mRNA per le malattie neurologiche monogeniche da perdita di funzione. Analizziamo inoltre le promesse e le potenziali sfide offerte dalle terapie a mRNA in questo campo in rapida evoluzione. Infine, sottolineiamo il pieno potenziale della terapia con mRNA come approccio terapeutico rivoluzionario per i disturbi neurologici.

Monfrini E, Baso G, Ronchi D, Meneri M, Gagliardi D, Quetti L, Verde F, Ticozzi N, Ratti A, Di Fonzo A, Comi GP, Ottoboni L, Corti S.

*Unleashing the potential of mRNA therapeutics for inherited neurological diseases.*

**Brain.** 2024 Sep 3;147(9):2934-2945. doi: 10.1093/brain/awae135. PMID: 38662782.

#### **4.2) L'apprendimento verbale nei pazienti frontali: l'area 9 è cruciale per l'impiego di strategie semantiche**

L'apprendimento è un processo di memoria a lungo termine fortemente influenzato dai processi di controllo implementati dalla memoria di lavoro, inclusa la capacità di riconoscere le proprietà semantiche degli elementi, attraverso cui i soggetti generano una struttura semantica degli engrammi. L'obiettivo di questo studio è indagare le strategie di apprendimento verbale in pazienti affetti da tumore al lobo frontale sinistro, al fine di evidenziare il ruolo dell'area 9.

Sono stati reclutati dieci pazienti con gliomi frontali di basso grado e dieci soggetti di controllo sani, appaiati per età, sesso e livello di istruzione. I partecipanti sono stati valutati attraverso un test di apprendimento verbale in due parti: apprendimento di una lista di parole con richiamo libero su più prove, e apprendimento della stessa lista di parole preceduto da un suggerimento esplicito riguardante una strategia semantica. I pazienti frontali sono stati suddivisi in due gruppi: quelli con lesioni frontali che coinvolgevano o risparmiavano l'area 9. Rispetto ai soggetti di controllo sani, i pazienti frontali con lesioni che coinvolgevano l'area 9 memorizzavano un numero inferiore di parole e mostravano difficoltà nell'utilizzo di strategie semantiche. Quando la strategia veniva suggerita dall'esaminatore, le loro prestazioni miglioravano, ma in misura minore rispetto ai soggetti di controllo sani. Al contrario, i pazienti frontali con lesioni che risparmiavano l'area 9 mostravano risultati simili a quelli dei soggetti di controllo sani.

I risultati suggeriscono che, sebbene l'identificazione del criterio categoriale richieda l'integrità dell'intera area prefrontale dorsolaterale, solo l'area 9, e non le aree circostanti, potrebbe essere responsabile dell'uso efficace di strategie semantiche nei compiti di apprendimento.

Cocuzza A, Bertani G, Conte G, Aiello EN, Zarino B, Difonzo T, Zago S, Tariciotti L, Gendarini C, Baratelli E, Verde F, Poletti B, Ticozzi N, Pluderi M, Locatelli M, Comi GP, Saetti MC.

*Verbal learning in frontal patients: area 9 is critical for employing semantic strategies.*

**Neurol Sci.** 2024 Oct;45(10):1-9. doi: 10.1007/s10072-024-07569-7. Epub 2024 May 9. Erratum in: **Neurol Sci.** 2024 Oct;45(10):5111-5112. doi: 10.1007/s10072-024-07596-4. PMID: 38724753; PMCID: PMC11422476.

#### **4.3) Una rara associazione tra sindrome di Guillain-Barré/sindrome di Miller-Fisher sovrapposta e infezione da Herpes Simplex Virus di tipo 1: fattore scatenante o aggravante?**

La sindrome di Guillain-Barré (GBS) e le sue varianti rappresentano uno spettro di polineuropatie acute immuno-mediate, con presentazioni cliniche eterogenee e diverse eziologie sottostanti. Sebbene i fattori infettivi siano comunemente precursori di questi disturbi, l'associazione tra infezioni virali e condizioni neurologiche autoimmuni rimane un'area di attiva ricerca. Riportiamo il caso di un uomo di 80 anni con sindrome di sovrapposizione GBS/sindrome di Miller-Fisher, che si è presentato con disartria, disfonia, oftalmoplegia, areflessia e instabilità posturale, in seguito a un'infezione delle vie respiratorie superiori. L'analisi del liquido cerebrospinale ha rivelato inaspettatamente la presenza di DNA di Herpes Simplex Virus di tipo 1 (HSV-1). Il trattamento con immunoglobuline endovenose e aciclovir ha portato a un progressivo recupero dei sintomi neurologici. Questo caso sottolinea il ruolo delle infezioni virali nella diagnosi differenziale o come possibili fattori scatenanti di disturbi neurologici autoimmuni. Evidenzia inoltre l'efficacia di una terapia mirata in casi complessi come questo.

Alberti C, Moliterno N, Iacobelli V, Velardo D, Comi GP, Corti S, Parisi M, Abati E.

*A rare association of Guillain-Barré syndrome/Miller-Fisher syndrome overlap syndrome and Herpes Simplex Virus Type 1 infection: trigger or exacerbating factor?*

**Ther Adv Neurol Disord.** 2024 Dec 3;17:17562864241297086. doi: 10.1177/17562864241297086. PMID: 39628849; PMCID: PMC11613286.



## **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 Myasthene- Syndrom (LEMS) mediante tecniche di immunofluorescenza indiretta (IIF) ed Immunblot (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.

Nel corso del 2024 è stato ulteriormente implementato il numero di sperimentazioni farmacologiche multicentriche internazionali attive presso il nostro Centro. In particolare, sono iniziati due nuovi studi clinici, rivolti a pazienti affetti da un sottotipo specifico di Distrofia Muscolare dei Cingoli, la LGMD2I, e da Distrofia Muscolare di Becker, patologie per le quali finora non sono disponibili opzioni terapeutiche. L'opzione di terapia genica, già proposta lo scorso anno in soggetti deambulanti affetti da Distrofia Muscolare di Duchenne è stata estesa con un nuovo trial clinico a pazienti di età più avanzata e non deambulanti, al fine di vagliare l'efficacia di questa terapia in un gruppo più ampio di pazienti. Sono infine proseguite tutte le altre sperimentazioni già in atto presso il nostro centro. La partecipazione a questi studi sperimentali è fondamentale al fine di promuovere lo sviluppo di nuovi approcci terapeutici per queste patologie rare finora prive di opzioni valide.

Le sperimentazioni svolte nel corso del 2024 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”

- EXPEDITION SRP-9001-3052024 A Phase 3, Multinational, Long-Term Follow-Up Study to Evaluate Safety and Efficacy in Subjects Who Have Previously Received SRP-9001 in a Clinical Study
- ENVISION SRP-9001-303 Phase II A Gene Transfer Therapy Study to Evaluate the Safety and Efficacy of Delandistrogene Moxeparvovec (SRP-9001) in Non-Ambulatory and Ambulatory Participants With Duchenne Muscular Dystrophy (DMD)

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

Nel corso del 2024 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. Lo studio è attualmente concluso e tutti i pazienti partecipano ora allo studio Expedition, uno studio osservazionale che consentirà la raccolta dei dati a lungo termine.

**1.2 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.

### **1.3- Studio SRP-9001-303 Envision**

Lo studio iniziato nel maggio 2024 estende la possibilità di partecipare a sperimentazioni di terapia genica a pazienti affetti da Distrofia Muscolare di Duchenne in fase di perdita della deambulazione o non deambulant. Lo scopo è quello di valutare la sicurezza del farmaco e la sua efficacia nel rallentare la progressione della patologia anche nelle fasi più avanzate di malattia, in particolare per quanto riguarda la funzionalità cardiaca e respiratoria e la forza agli arti superiori. Abbiamo al momento attuale arruolato 4 pazienti, attualmente in follow-up. L'arruolamento è ancora aperto.

### **1.4 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 pazienti affetti da Distrofia Muscolare di Duchenne. Questo farmaco è in fase di studio presso il nostro centro dal 2017. Attualmente 5 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. Il farmaco negli studi clinici ha dimostrato una buona tollerabilità e dei risultati statisticamente significativi in termini di capacità di rallentare la progressione della patologia. Questi dati hanno portato nel corso del 2024 alla approvazione negli Stati Uniti e a breve è attesa l'approvazione definitiva anche in Italia.

### **1.5 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.



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

- EDG-5506-201 A 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

Nell'autunno 2024 è stata confermata la partecipazione del nostro Centro 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 con risultati incoraggianti ed è stata testata in uno studio di fase 2 su pazienti affetti da Distrofia Muscolare dimostrando la sicurezza del farmaco e un trend positivo nelle misure di efficacia. Abbiamo arruolato nello studio 4 pazienti che verranno seguiti nel corso dei prossimi anni. Le misure di efficacia prevedono l'esecuzione di test funzionali e di Risonanza Magnetica muscolare.

## **3) Sperimentazioni in pazienti affetti da Atrofia Muscolare Spinale**

- 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.

Nel corso del 2024 abbiamo continuato a seguire i pazienti affetti da Amiotrofia Spinale e arruolati in sperimentazioni cliniche.

Al momento attuale per questa patologia sono stati approvati tre differenti farmaci. 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 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. 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. Un inizio precoce della terapia dovrebbe essere garantito dalla recente approvazione in Lombardia dello screening neonatale per questa grave patologia neuromuscolare.

Presso il nostro Centro seguiamo pazienti trattati con tutte e tre le tipologie di farmaci.

### **3.1) Studi 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.. 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.

E' rimasto attivo invece 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 2024 lo studio osservazionale a lungo termine per i pazienti precedentemente trattati con terapia genica.

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 (CIPD)**

- 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 (CIPD). ARGX-113-1902

Prosegue lo studio osservazionale nel paziente arruolato nel 2021 nella 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 (CIPD). 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 non hanno consentito l'inclusione di ulteriori pazienti.

### **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.
- 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)
- 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

#### **5.1 Storia naturale delle Distrofie Muscolari dei Cingoli**

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.

Al momento attuale non esistono terapie specifiche per questo gruppo di patologie. Tuttavia, potenziali nuovi approcci terapeutici sono in via di sviluppo., 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 rende difficile la raccolta sistematica e prospettica di tali dati.

Questo studio si propone di definire la storia naturale delle sarcoglicanopatie e prevede la raccolta con frequenza semestrale di dati clinici, funzionali, morfologici. Al momento seguiamo 13 pazienti che effettuano un regolare follow-up. La durata dello studio è stata estesa a 5 anni. Inoltre è prevista l'estensione anche a pazienti affetti da calpainopatia, un'altra forma di Distrofia Muscolare dei Cingoli. La raccolta di questi dati è fondamentale per il disegno di future sperimentazioni farmacologiche.

## **5.2 Studio MLB-01-005A in pazienti affetti da LGMD2I**

La Distrofia Muscolare dei Cingoli 2I, da deficit della proteina Fukutin Related Protein, è una forma di Distrofia determinata da un alterato processo di glicosilazione di proteine muscolari. BBP-418, ribitolo, è una piccola molecola somministrata per via orale che agisce migliorando la glicosilazione della proteina alfa-distroglicano, processo deficitario nei pazienti affetti da questa forma di distrofia. 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. E' una sperimentazione impegnativa per i pazienti, in quanto richiede frequenti valutazioni e l'esecuzione ripetuta di biopsie muscolari al fine di valutare l'effetto della terapia. Nel corso del 2024 abbiamo arruolato in questa sperimentazione 4 pazienti, che sono attualmente in follow-up.

## **5.3 Studio SRP-9003-301 in pazienti affetti da Distrofia Muscolare dei Cingoli da deficit di beta-sarcoglicano**

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. Rappresenta il primo tentativo di approccio terapeutico in questa forma di distrofia. Il nostro centro è stato attivato a fine 2024 ma al momento attuale non è consentito l'arruolamento nella sperimentazione di nuovi pazienti.

Stiamo inoltre seguendo le fasi di attivazione del seguente studio clinico.

- 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.

## **ELENCO DEI LAVORI SCIENTIFICI PUBBLICATI IN ESTENSO**

Hidalgo-Gutierrez A, Shintaku J, Ramon J, Barriocanal-Casado E, Pesini A, Saneto RP, Garrabou G, Milisenda JC, Matas-Garcia A, Gort L, Ugarteburu O, Gu Y, Koganti L, Wang T, Tadesse S, Meneri M, Sciacco M, Wang S, Tanji K, Horwitz MS, Dorschner MO, Mansukhani M, Comi GP, Ronchi D, Marti R, Ribes A, Tort F, Hirano M.

*Guanylate Kinase 1 Deficiency: A Novel and Potentially Treatable Mitochondrial DNA Depletion/Deletions Disease.*

**Ann Neurol.** 2024 Dec;96(6):1209-1224. doi: 10.1002/ana.27071. Epub 2024 Sep 4. PMID: 39230499; PMCID: PMC11563867. [IF = 8,3]

Manzoni E, Carli S, Gaignard P, Schlieben LD, Hirano M, Ronchi D, Gonzales E, Shimura M, Murayama K, Okazaki Y, Barić I, Petkovic Ramadza D, Karall D, Mayr J, Martinelli D, La Morgia C, Primiano G, Santer R, Servidei S, Bris C, Cano A, Furlan F, Gasperini S, Laborde N, Lamperti C, Lenz D, Mancuso M, Montano V, Menni F, Musumeci O, Nesbitt V, Procopio E, Rouzier C, Staufner C, Taanman JW, Tal G, Ticci C, Cordelli DM, Carelli V, Procaccio V, Prokisch H, Garone C. *Deoxyguanosine kinase deficiency: natural history and liver transplant outcome.*

**Brain Commun.** 2024 May 6;6(3):fcae160. doi: 10.1093/braincomms/fcae160. PMID: 38756539; PMCID: PMC11098040. [IF = 3,93]

Donkervoort S, van de Locht M, Ronchi D, Reunert J, McLean CA, Zaki M, Orbach R, de Winter JM, Conijn S, Hoomoedt D, Neto OLA, Magri F, Viaene AN, Foley AR, Gorokhova S, Bolduc V, Hu Y, Acquaye N, Napoli L, Park JH, Immadisetty K, Miles LB, Essawi M, McModie S, Ferreira LF, Zanutti S, Neuhaus SB, Medne L, ElBagoury N, Johnson KR, Zhang Y, Laing NG, Davis MR, Bryson-Richardson RJ, Hwee DT, Hartman JJ, Malik FI, Keken-Huskey PM, Comi GP, Sharaf-Eldin W, Marquardt T, Ravenscroft G, Bönnemann CG, Ottenheijm CAC. *Pathogenic TNNI1 variants disrupt sarcomere contractility resulting in hypo- and hypercontractile muscle disease.*

**Sci Transl Med.** 2024 Apr 3;16(741):eadg2841. doi: 10.1126/scitranslmed.adg2841. Epub 2024 Apr 3. PMID: 38569017. [IF = 15,8]

Rimoldi M, Lucchiari S, Pagliarani S, Meola G, Comi GP, Abati E.

*Myotonic dystrophies: an update on clinical features, molecular mechanisms, management, and gene therapy.*

**Neurol Sci.** 2024 Dec 7. doi: 10.1007/s10072-024-07826-9. Epub ahead of print. PMID: 39643839. [IF = 2,7]

Abati E, Alberti C, Tambè V, Esseridou A, Comi GP, Corti S, Meola G, Secchi F.

*Cardiac risk and myocardial fibrosis assessment with cardiac magnetic resonance in patients with myotonic dystrophy.*

**Front Neurol.** 2024 Nov 21;15:1493570. doi: 10.3389/fneur.2024.1493570. PMID: 39639989; PMCID: PMC11617365. [IF = 2,7]

Piga D, Rimoldi M, Magri F, Zanutti S, Napoli L, Ripolone M, Pagliarani S, Ciscato P, Velardo D, D'Amico A, Bertini E, Comi GP, Ronchi D, Corti S.

*Case report: A novel ACTA1 variant in a patient with nemaline rods and increased glycogen deposition.*

**Front Neurol.** 2024 Mar 4;15:1340693. doi: 10.3389/fneur.2024.1340693. PMID: 38500810; PMCID: PMC10944937. [IF = 2,7]

Rimoldi M, Romagnoli G, Magri F, Antognozzi S, Cinnante C, Saccani E, Ciscato P, Zanutti S, Velardo D, Corti S, Comi GP, Ronchi D.

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

**Front Neurol.** 2024 Jan 18;14:1281953. doi: 10.3389/fneur.2023.1281953. PMID: 38304327; PMCID: PMC10831852. [IF = 2,7]

Nicastro M, Vermeer AMC, Postema PG, Tadros R, Bowling FZ, Aegisdottir HM, Tragante V, Mach L, Postma AV, Lodder EM, van Duijvenboden K, Zwart R, Beekman L, Wu L, van der Zwaag PA,

Alders M, Allouba M, Aguib Y, Santomel JL, de Una D, Monserrat L, Miranda AMA, Kanemaru K, Cranley J, van Zeggeren IE, Aronica EMA, Ripolone M, Zanotti S, Sveinbjornsson G, Ivarsdottir EV, Hólm H, Guðbjartsson DF, Skúladóttir ÁT, Stefánsson K, Nadauld L, Knowlton KU, Ostrowski SR, Sørensen E, Vesterager Pedersen OB, Ghouse J, Rand S, Bundgaard H, Ullum H, Erikstrup C, Aagaard B, Bruun MT, Christiansen M, Jensen HK, Carere DA, Cummings CT, Fishler K, Tøring PM, Brusgaard K, Juul TM, Saaby L, Winkel BG, Mogensen J, Fortunato F, Comi GP, Ronchi D, van Tintelen JP, Nosedà M, Airola MV, Christiaans I, Wilde AAM, Wilders R, Clur SA, Verkerk AO, Bezzina CR, Lahrouchi N.

*Biallelic variants in POPDC2 cause a novel autosomal recessive syndrome presenting with cardiac conduction defects and variable hypertrophic cardiomyopathy.*

**medRxiv** [Preprint]. 2024 Jul 5;2024.07.04.24309755. doi: 10.1101/2024.07.04.24309755. PMID: 39006410; PMCID: PMC11245065.

Piga D, Zanotti S, Ripolone M, Napoli L, Ciscato P, Gibertini S, Maggi L, Fortunato F, Rigamonti A, Ronchi D, Comi GP, Corti S, Sciacco M.

*Association between ZASP/LDB3 Pro26Ser and Inclusion Body Myopathy.*

**Int J Mol Sci.** 2024 Jun 14;25(12):6547. doi: 10.3390/ijms25126547. PMID: 38928252; PMCID: PMC11203685. [IF = 4,9]

Lucchiari S, Fortunato F, Meola G, Mignarri A, Pagliarani S, Corti S, Comi GP, Ronchi D.

*Case report: Multiple approach analysis in a case of clinically assessed myotonia congenita.*

**Front Genet.** 2024 Dec 6;15:1486977. doi: 10.3389/fgene.2024.1486977. PMID: 39712484; PMCID: PMC11659273. [IF = 2,8]

Aburahma SK, Rousan LA, Shboul M, Biella F, Lucchiari S, Comi GP, Meola G, Pagliarani S.

*Case report: Dihydropyridine receptor (CACNA1S) congenital myopathy, a novel phenotype with early onset periodic paralysis.*

**Front Neurol.** 2024 Feb 15;15:1359479. doi: 10.3389/fneur.2024.1359479. PMID: 38426167; PMCID: PMC10902085. [IF = 2,7]

Abati E, Gagliardi D, Manini A, Del Bo R, Ronchi D, Meneri M, Beretta F, Sarno A, Rizzo F, Monfrini E, Di Fonzo A, Pellicchia MT, Brusati A, Silani V, Comi GP, Ratti A, Verde F, Ticozzi N, Corti S.

*Investigating the prevalence of MFN2 mutations in amyotrophic lateral sclerosis: insights from an Italian cohort.*

**Brain Commun.** 2024 Sep 23;6(5):fcae312. doi: 10.1093/braincomms/fcae312. PMID: 39315308; PMCID: PMC11417610. [IF = 3,93]

Gagliardi D, Canzio E, Orsini P, Conti P, Sinisi V, Maggiore C, Santarsia MC, Lagioia G, Lupis G, Roppa I, Scianatico G, Mancini D, Corti S, Comi GP, Gentile M, Gagliardi D.

*Early spinal muscular atrophy treatment following newborn screening: A 20-month review of the first Italian regional experience.*

**Ann Clin Transl Neurol.** 2024 May;11(5):1090-1096. doi: 10.1002/acn3.52018. Epub 2024 Apr 10. PMID: 38600653; PMCID: PMC11093231. [IF = 4,4]

Abati E, Mauri E, Rimoldi M, Madini B, Patria F, Comi GP, Corti S.

*Sleep and sleep-related breathing disorders in patients with spinal muscular atrophy: a changing perspective from novel treatments?*

**Front Neurol.** 2024 Jun 4;15:1299205. doi: 10.3389/fneur.2024.1299205. PMID: 38895692; PMCID: PMC11184139. [IF = 2,7]

Gagliardi D, Rizzuti M, Masrori P, Saccomanno D, Del Bo R, Sali L, Meneri M, Scarcella S, Milone I, Hersmus N, Ratti A, Ticozzi N, Silani V, Poesen K, Van Damme P, Comi GP, Corti S, Verde F. *Exploiting the role of CSF NfL, CHIT1, and miR-181b as potential diagnostic and prognostic biomarkers for ALS.*

**J Neurol.** 2024 Dec;271(12):7557-7571. doi: 10.1007/s00415-024-12699-1. Epub 2024 Sep 28. PMID: 39340541; PMCID: PMC11588799. [IF = 4,8]

Govoni A, Ricci G, Bonanno S, Bello L, Magri F, Meneri M, Torri F, Caponnetto C, Passamano L, Grandis M, Trojsi F, Cerri F, Gadaleta G, Capece G, Caumo L, Tanel R, Saccani E, Vacchiano V, Sorarù G, D'Errico E, Tramacere I, Bortolani S, Rolle E, Gellera C, Zanin R, Silvestrini M, Politano L, Schenone A, Previtali SC, Berardinelli A, Turri M, Verriello L, Coccia M, Mantegazza R, Liguori R, Filosto M, Maioli MA, Simone IL, Mongini T, Corti S, Manca ML, Pegoraro E, Siciliano G, Comi GP, Maggi L.

*Six-minute walk test as outcome measure of fatigability in adults with spinal muscular atrophy treated with nusinersen.*

**Muscle Nerve.** 2024 Oct;70(4):816-823. doi: 10.1002/mus.28225. Epub 2024 Aug 2. PMID: 39096012. [IF = 2,8]

Cocuzza A, Bertani G, Conte G, Aiello EN, Zarino B, Difonzo T, Zago S, Tariciotti L, Gendarini C, Baratelli E, Verde F, Poletti B, Ticozzi N, Pluderi M, Locatelli M, Comi GP, Saetti MC.

*Verbal learning in frontal patients: area 9 is critical for employing semantic strategies.*

**Neurol Sci.** 2024 Oct;45(10):1-9. doi: 10.1007/s10072-024-07569-7. Epub 2024 May 9. Erratum in: **Neurol Sci.** 2024 Oct;45(10):5111-5112. doi: 10.1007/s10072-024-07596-4. PMID: 38724753; PMCID: PMC11422476. [IF = 2,7]

Monfrini E, Baso G, Ronchi D, Meneri M, Gagliardi D, Quetti L, Verde F, Ticozzi N, Ratti A, Di Fonzo A, Comi GP, Ottoboni L, Corti S.

*Unleashing the potential of mRNA therapeutics for inherited neurological diseases.*

**Brain.** 2024 Sep 3;147(9):2934-2945. doi: 10.1093/brain/awae135. PMID: 38662782. [IF = 11,9]

Alberti C, Moliterno N, Iacobelli V, Velardo D, Comi GP, Corti S, Parisi M, Abati E.

*A rare association of Guillain-Barré syndrome/Miller-Fisher syndrome overlap syndrome and Herpes Simplex Virus Type 1 infection: trigger or exacerbating factor? Ther Adv*

**Neurol Disord.** 2024 Dec 3;17:17562864241297086. doi: 10.1177/17562864241297086. PMID: 39628849; PMCID: PMC11613286. [IF = 4,7]

## ELENCO DEGLI ABSTRACT PRESENTATI IN CONGRESSI NAZIONALI E INTERNAZIONALI

Piga D; Zanotti S; Ripolone M; Napoli L; Ciscato P; Gibertini S; Maggi L; Fortunato F; Rigamonti A; Ronchi D; Sciacco M; Comi GP; Corti S.

**"New association between the ZASP/LDB3 Pro26Ser variant and inclusion body myositis".**

24° Congresso Associazione Italiana Miologia, Roma 5-8 Giugno 2024.

Moliterno N, Velardo D, Abati E, Antognozzi S, Ripolone M, Zanotti S, Napoli L, Ciscato P, Sciacco M, Corti S, Comi GP, Ronchi D

**"Atypical BAG3-related adult-onset clinical presentation"**

24° Congresso Associazione Italiana Miologia, Roma 5-8 Giugno 2024.

Molitierno N, Velardo D, Abati E, Antognozzi S, Ripolone M, Zanotti S, Napoli L, Ciscato P, Sciacco M, Comi Gp, Corti S, Ronchi R

**“A novel patient presenting late-onset Polyglucosan Body myopathy due to *GYG1* mutations: a case report and review of the literature”**

24° Congresso Associazione Italiana Miologia, Roma 5-8 Giugno 2024.

Magri F, Velardo D, Abati E, Antognozzi A, Del Bo R, Piga D, Lucchiari S, Pagliarani S, Sciacco M, Corti S, Comi Gp, Ronchi D

**“Next-generation sequencing for the diagnosis of primary muscle disorder: the experience of the Dino Ferrari Center in Milan”.**

24° Congresso Associazione Italiana Miologia, Roma 5-8 Giugno 2024.

Magri F, Zanotti S, Velardo D, Antognozzi S, Ripolone M, Napoli L, Ciscato P, Sciacco M, Corti S, Comi S, Ronchi D

**“Pathogenic *TNNI1* variants cause muscle disease manifesting as either a hypo- (recessively inherited) or a hyper- (dominantly inherited) contractile phenotype.”**

24° Congresso Associazione Italiana Miologia, Roma 5-8 Giugno 2024.

Rimoldi M, Magri F, Velardo D, Abati E, Del Bo R, Piga D, Lucchiari S, Pagliarani S, Sciacco M, Corti S, Comi Gp, Ronchi D

**“Next-generation sequencing for the diagnosis of primary muscle disorder: the experience of the Dino Ferrari Center in Milan.”**

XXVII Congresso Nazionale della Società Italiana di Genetica Umana (SIGU), Padova 2-4 Ottobre 2024

Rimoldi M, Magri F, Meneri M, Gagliardi D, Sansone V, Albamonte E, Comi GP, Mercuri EM, Tiziano FD, Corti S, Ronchi D

**“Identification of Intragenic SMN1 Mutations in a Large Italian SMA Patient Cohort”.**

XXVII Congresso Nazionale della Società Italiana di Genetica Umana (SIGU), Padova 2-4 Ottobre 2024

### **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 privati**

2024 PNRR Ministero della Salute “Retrotrasposoni nella patogenesi e terapia della SLA” (450.000 euro)

2024 PNRR-POC “miR129” Ministero della Salute (450.000 euro)

2023 Ministero della Salute “A novel stem cell therapy for ALS targeting upper motor neurons” (431.587 euro)

UNIMI PSR-2023 “Third generation DNA sequencing to identify novel genetic determinants and to expand the repertoire of molecular defects in muscular disorders”.

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.

FRRB 2018-2021 “ITF-Becker; nuovo approccio terapeutico alla Distrofia Muscolare di Becker (DMB)” (914.041 euro)

FRRB 2017-2020 “Translating molecular mechanisms to ALS risk and patients well-being (TRANS-ALS)” (278.880 euro)

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 piattaforme “Call NGS Platform 2020” promosso dall’IRCCS Fondazione Ca’ Granda Ospedale Maggiore Policlinico.

2019 Ministero della Salute Ricerca Finalizzata “Biomarkers in SMA” (100.000 euro)



## **LABORATORIO CELLULE STAMINALI NEURALI**

### **RESPONSABILE:**

**Prof. Stefania Corti**

### **MEDICI:**

Dott. Delia Gagliardi

Dott. Elena Abati

### **BIOLOGI:**

Dott. Sabrina Salani

Dott. Federica Rizzo

Dott. Valeria Parente

Dott. Lorenzo Brambilla

Dott. Andrea D'Angelo

Dott. Alberto Romano

Dott. Martina D'Agostino

Dott. Pierluigi Di Vinci

Dott. Silvia Castiglioni

### **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. Giulia Magni

### **CHIMICI FARMACEUTICI:**

Dott. Linda Ottoboni

### **BIOINGEGNERI:**

Dott. Giorgia Galvani

### **TECNICI DI LABORATORIO:**

Dott. Letizia Bertolasi

L'attività di ricerca del laboratorio di Cellule Staminali Neurali è incentrata sullo studio dei meccanismi patogenetici e sullo sviluppo di strategie terapeutiche cellulari e molecolari per le malattie del motoneurone, neurodegenerative, neuromuscolari e neurologiche rare. In particolare, il laboratorio si occupa dello studio di patologie ad insorgenza infantile quali l'Atrofia Muscolare Spinale (SMA) e l'Atrofia Muscolare Spinale con Distress Respiratorio (SMARD1), di patologie ad insorgenza adulta come la Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA) e di neuropatie ereditarie come la Malattia di Charcot-Marie-Tooth di Tipo 2A (CMT2A). Per analizzare i meccanismi molecolari di queste malattie e valutare il potenziale terapeutico delle nuove strategie sviluppate, il laboratorio utilizza modelli cellulari *in vitro* 2D e 3D (organoidi) derivati da cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC) ottenute attraverso la riprogrammazione di cellule somatiche adulte, che consentono di utilizzare modelli cellulari specifici per il paziente. Inoltre, le iPSC servono come punto di partenza per lo sviluppo di strategie cellulo-mediate: il trapianto di cellule staminali rappresenta un potenziale approccio terapeutico per le malattie neurodegenerative, agendo sia attraverso meccanismi di sostituzione cellulare che di neuroprotezione. Il laboratorio sviluppa anche strategie di terapia genica utilizzando vettori adeno-associati (AAV) e terapia molecolare con oligonucleotidi antisense morfolino (MO).

Sono qui presentati in sintesi i risultati ottenuti dalle nostre ricerche nel 2024.

## ELENCO PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE SU RIVISTE PEER-REVIEWED

### **1. STMN2 come bersaglio per la neuroprotezione e il recupero neuromuscolare nell'atrofia muscolare spinale: evidenze da modelli SMA *in vitro* e *in vivo* (Pagliari et al., 2024)**

Lo sviluppo di strategie innovative di sostituzione della proteina di sopravvivenza del motoneurone (SMN) ha rivoluzionato il campo della ricerca sull'atrofia muscolare spinale (SMA). Tuttavia, i limiti di queste terapie sono diventati evidenti, evidenziando la necessità di sviluppare bersagli complementari oltre alla di SMN. Il nostro laboratorio ha studiato, in modelli di malattia *in vitro* e *in vivo*, il ruolo di Stathmin-2 (*STMN2*), un regolatore dei microtubuli neuronali implicato in malattie neurodegenerative come la Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA), come nuovo bersaglio indipendente da SMN per la terapia della SMA. I nostri risultati hanno rivelato che la sovraespressione di *STMN2* ripristina efficacemente i difetti di crescita e di crescita assonale nei motoneuroni derivati da cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC) di pazienti SMA. La somministrazione intracerebroventricolare di virus adeno-associato di sierotipo 9 (AAV9) che trasportano il cDNA di *STMN2* ha migliorato significativamente il tasso di sopravvivenza, le funzioni motorie e le caratteristiche patologiche muscolari e della giunzione neuromuscolare nei topi SMA, rispecchiando i risultati *in vitro*. Nel complesso, questo studio pionieristico non solo fornisce indicazioni sul potenziale terapeutico di *STMN2* nella SMA, ma suggerisce anche applicazioni più ampie per le malattie dei motoneuroni, segnando un sostanziale passo avanti nell'affrontare le sfide multiformi del trattamento delle malattie neurologiche.

Pagliari E, Taiana M, Manzini P, Sali L, Quetti L, Bertolasi L, Oldoni S, Melzi V, Comi G, Corti S, Nizzardo M, Rizzo F.

*Targeting STMN2 for neuroprotection and neuromuscular recovery in Spinal Muscular Atrophy: evidence from in vitro and in vivo SMA models.*

**Cell Mol Life Sci.** 2024 Dec 27;82(1):29. doi: 10.1007/s00018-024-05550-3. PMID: 39725771; PMCID: PMC11671459. **IF 6.2**

### **2. Valutazione del rischio cardiaco e della fibrosi miocardica con la risonanza magnetica cardiaca in pazienti con distrofia miotonica (Abati et al., 2024)**

La valutazione non invasiva del tessuto miocardico è uno dei principali obiettivi dell'imaging cardiaco. Questo è il caso della fibrosi miocardica, cruciale in molte malattie del miocardio. È stato dimostrato che il volume extracellulare cardiaco (ECV) indica la fibrosi miocardica e il coinvolgimento cardiaco precoce. Con questo studio, il nostro obiettivo è stato quello di valutare l'ECV misurato con la risonanza magnetica cardiaca (CMR) in pazienti con distrofia miotonica di tipo 1 (DM1) e 2 (DM2) come potenziale biomarcatore di imaging della patologia cardiaca subclinica, e la sua relazione con i parametri demografici e clinici, le misure di conduzione cardiaca derivate dall'ECG e lo stato di performance neuromuscolare. Abbiamo analizzato retrospettivamente 18 pazienti con DM1 e 4 pazienti con DM2 senza apparente patologia cardiaca sottoposti a CMR presso il nostro centro. Le differenze tra distribuzioni indipendenti sono state valutate con il test U di Mann-Whitney, mentre le correlazioni sono state valutate con il  $\rho$  di Spearman. Abbiamo riscontrato un aumento significativo dell'ECV cardiaco globale e settale nei pazienti con DM1. Questi valori suggeriscono che i pazienti con DM1 presentano un aumento del rischio cardiovascolare, dovuto principalmente alla fibrosi cardiaca, anche in assenza di patologie cardiache evidenti ad altri comuni esami cardiovascolari. I pazienti con DM1 potrebbero anche essere a maggior rischio di fibrosi settale precoce, con importanti implicazioni sul rischio di aritmie fatali. Inoltre, i nostri risultati suggeriscono la presenza di differenze legate al genere, con le donne DM1 più inclini alla fibrosi miocardica. I medici che si occupano di DM1 possono considerare la CMR come uno strumento di screening per l'identificazione precoce dei pazienti con un aumentato rischio cardiovascolare.

Abati E, Alberti C, Tambè V, Esseridou A, Comi GP, Corti S, Meola G, Secchi F.

*Cardiac risk and myocardial fibrosis assessment with cardiac magnetic resonance in patients with myotonic dystrophy.*

**Front Neurol.** 2024 Nov 21;15:1493570. doi: 10.3389/fneur.2024.1493570. PMID: 39639989; PMCID: PMC11617365. **IF 2.7**

### **3. Una rara associazione tra sindrome di Guillain-Barré/sindrome di Miller-Fisher e infezione da Herpes Simplex Virus di tipo 1: fattore scatenante o esacerbante? (Alberti et al., 2024)**

La sindrome di Guillain-Barré (GBS) e le sue varianti rappresentano uno spettro di polineuropatie acute immuno-mediate con presentazioni cliniche eterogenee ed eziologie sottostanti. Mentre le cause infettive sono precursori comuni di questi disturbi, l'associazione tra infezioni virali e condizioni neurologiche autoimmuni rimane un'area di indagine attiva. Qui riportiamo un caso di sovrapposizione di GBS/Sindrome di Miller-Fisher in un uomo di 80 anni che presentava disartria, disfonia, oftalmoplegia, areflessia e instabilità posturale in seguito a un'infezione del tratto respiratorio superiore. L'analisi del liquido cerebrospinale ha rivelato l'inatteso rilevamento del DNA del virus herpes simplex tipo 1. Il trattamento con immunoglobuline per via endovenosa e aciclovir ha portato a un progressivo recupero dei sintomi neurologici. Questo caso sottolinea il ruolo delle infezioni virali nella diagnosi differenziale o come potenziali fattori scatenanti di disturbi neurologici autoimmuni, evidenziando l'efficacia della terapia indirizzata in casi così complessi.

Alberti C, Moliterno N, Iacobelli V, Velardo D, Comi GP, Corti S, Parisi M, Abati E.

*A rare association of Guillain-Barré syndrome/Miller-Fisher syndrome overlap syndrome and Herpes Simplex Virus Type 1 infection: trigger or exacerbating factor?*

**Ther Adv Neurol Disord.** 2024 Dec 3;17:17562864241297086. doi: 10.1177/17562864241297086. PMID: 39628849; PMCID: PMC11613286. **IF 4.7**

### **4. Studio del ruolo di NfL, CHIT1 e miR-181b come potenziali biomarcatori diagnostici e prognostici per la SLA (Gagliardi et al., 2024)**

La sclerosi laterale amiotrofica (SLA) è una rara malattia neurodegenerativa caratterizzata dalla perdita progressiva e inarrestabile dei motoneuroni. Una diagnosi molecolare, supportata dall'identificazione di specifici biomarcatori, potrebbe favorire la definizione di molteplici sottotipi biologici di SLA, migliorando la stratificazione dei pazienti e fornendo informazioni prognostiche. In questo lavoro, abbiamo studiato i livelli di NfL, chitotriosidasi (CHIT1) e microRNA-181b (miR-181b) nel liquido cerebrospinale (CSF) di soggetti affetti da SLA e di controlli sani e affetti da malattie neurologiche di un'ampia coorte multicentrica europea, valutandone l'utilità specifica o combinata come biomarcatori diagnostici e prognostici. NfL, CHIT1 e miR-181b hanno tutti mostrato livelli significativamente più elevati nei soggetti affetti da SLA rispetto ai controlli, con NfL che ha mostrato la performance diagnostica più efficace. È importante notare che tutti e tre i biomarcatori erano aumentati rispetto ai controlli delle malattie neurodegenerative e, in particolare, rispetto ai pazienti con malattia di Alzheimer, con NfL e CHIT1 che sono risultati anche più alti nella SLA rispetto alle alfa-sinucleinopatie. In particolare, i pazienti affetti da SLA hanno mostrato un aumento dei livelli di CHIT1 nonostante avessero, rispetto ai controlli, una maggiore prevalenza di un polimorfismo che riduce l'espressione di CHIT1. Mentre non è stata trovata alcuna relazione tra miR-181b del liquor e le misure cliniche nella SLA (durata della malattia, disabilità funzionale e tasso di progressione della malattia), NfL del liquor è stato il miglior predittore indipendente di progressione della malattia e sopravvivenza. Questo studio approfondisce le nostre conoscenze sui biomarcatori della SLA, evidenziando la relativa specificità di CHIT1 per la SLA tra le malattie neurodegenerative e valutando la potenziale utilità diagnostica di miR-181b del liquor.

Gagliardi D, Rizzuti M, Masrori P, Saccomanno D, Del Bo R, Sali L, Meneri M, Scarcella S, Milone I, Hersmus N, Ratti A, Ticozzi N, Silani V, Poesen K, Van Damme P, Comi GP, Corti S, Verde F. *Exploiting the role of CSF NfL, CHIT1, and miR-181b as potential diagnostic and prognostic biomarkers for ALS*.

**J Neurol.** 2024 Dec;271(12):7557-7571. doi: 10.1007/s00415-024-12699-1. Epub 2024 Sep 28. PMID: 39340541; PMCID: PMC11588799. **IF 4.8**

## **5. Indagine sulla prevalenza delle mutazioni di MFN2 nella sclerosi laterale amiotrofica: approfondimenti da una coorte italiana (Abati et al., 2024)**

Il gene MFN2 codifica per la mitofusina 2, una proteina chiave per la fusione, il trasporto, il mantenimento e la comunicazione cellulare dei mitocondri. Le mutazioni di MFN2 sono principalmente legate alla malattia di Charcot-Marie-Tooth di tipo 2A. Tuttavia, sono stati riportati alcuni casi di sclerosi laterale amiotrofica (SLA) e di sclerosi laterale amiotrofica/demenza frontotemporale (FTD) con mutazioni MFN2 concomitanti. Questo studio ha esaminato le caratteristiche cliniche e genetiche di una coorte italiana di pazienti affetti da SLA con rare mutazioni MFN2 non sinonime. Un gruppo di pazienti con diagnosi di SLA presso la nostra Unità di Neurologia tra il 2008 e il 2023 è stato sottoposto a test molecolari completi, tra cui quello di MFN2. Dopo aver escluso le mutazioni patogene nei principali geni correlati alla SLA (cioè *C9orf72*, *SOD1*, *FUS* e *TARDBP*), le varianti di MFN2 sono state classificate in base alle linee guida dell'American College of Medical Genetics and Genomics e sono stati recuperati i dati demografici e clinici dei pazienti mutati in MFN2. Abbiamo identificato 12 varianti MFN2 rare, eterozigoti e non sinonime in 19 individui (4,9%). Otto di queste varianti, presenti in nove pazienti (2,3%), erano patogene, probabilmente patogene o varianti di significato sconosciuto secondo le linee guida dell'American College of Medical Genetics and Genomics. Tra questi pazienti, quattro presentavano un modello di ereditarietà familiare. I fenotipi osservati comprendevano la SLA classica e bulbare, la SLA/FTD, il braccio flaccido, la gamba flaccida e l'atrofia muscolare progressiva. La sopravvivenza mediana dopo l'esordio della malattia è risultata estremamente variabile, variando da meno di 1 a 13 anni. Questo studio analizza la prevalenza di varianti rare e non sinonime di MFN2 in una coorte italiana di pazienti affetti da SLA, che sono stati ampiamente studiati, migliorando la nostra conoscenza dello spettro

fenotipico sottostante. Sono necessarie ulteriori ricerche per capire se le mutazioni di MFN2 contribuiscono alla malattia del motoneurone e in che misura. Migliorare le nostre conoscenze sulle basi genetiche della SLA è fondamentale sia in una prospettiva diagnostica che terapeutica.

Abati E, Gagliardi D, Manini A, Del Bo R, Ronchi D, Meneri M, Beretta F, Sarno A, Rizzo F, Monfrini E, Di Fonzo A, Pellecchia MT, Brusati A, Silani V, Comi GP, Ratti A, Verde F, Ticozzi N, Corti S.

*Investigating the prevalence of MFN2 mutations in amyotrophic lateral sclerosis: insights from an Italian cohort.*

**Brain Commun.** 2024 Sep 23;6(5):fcae312. doi: 10.1093/braincomms/fcae312. PMID: 39315308; PMCID: PMC11417610. **IF 4.1**

## **6. Disturbi del sonno e disturbi della respirazione correlati al sonno nei pazienti con atrofia muscolare spinale: una nuova prospettiva grazie ai nuovi trattamenti? (Abati et al., 2024)**

L'atrofia muscolare spinale (SMA) è una malattia neuromuscolare ereditaria caratterizzata da progressiva debolezza e atrofia muscolare, dovuta alla degenerazione dei motoneuroni del midollo spinale. Un aspetto critico della SMA è il suo impatto sulla funzione respiratoria. Con il progredire della malattia, i muscoli respiratori, in particolare quelli intercostali, vengono sempre più colpiti, causando difficoltà respiratorie e insufficienza respiratoria. Senza un intervento, molti bambini con SMA di tipo 1 muoiono per insufficienza respiratoria prima del secondo anno di vita. La ventilazione assistita ha migliorato la sopravvivenza, ma spesso comporta la dipendenza dal ventilatore. Nonostante lo sviluppo di nuove terapie che migliorano i sintomi della SMA, il loro impatto a lungo termine sulla funzione respiratoria è incerto e il supporto respiratorio non invasivo rimane una parte importante della gestione della SMA. Nonostante l'importanza del supporto respiratorio nella SMA, le conoscenze sui disturbi del sonno in questa popolazione sono limitate. Questa revisione ha l'obiettivo di sintetizzare la letteratura esistente sui disturbi del sonno e della respirazione correlati al sonno nei pazienti con SMA, con particolare attenzione alla SMA di tipo 1. Abbiamo riassunto le evidenze sui disturbi respiratori correlati al sonno e sull'insufficienza respiratoria nella SMA, nonché gli esiti e i benefici in termini di sopravvivenza associati alla ventilazione non invasiva o invasiva con o senza terapie farmacologiche. Si discutono inoltre le attuali conoscenze sugli effetti delle nuove terapie modificanti la malattia SMA sulla funzione respiratoria e sul sonno. In conclusione, l'assistenza ottimale per i bambini affetti da SMA richiede un approccio multidisciplinare che includa specialisti neurologi e respiratori. Questa revisione sottolinea l'importanza del monitoraggio del sonno e della funzione respiratoria nella SMA, nonché i potenziali benefici e le sfide associate alla ventilazione assistita combinata con le nuove terapie.

Abati E, Mauri E, Rimoldi M, Madini B, Patria F, Comi GP, Corti S.

*Sleep and sleep-related breathing disorders in patients with spinal muscular atrophy: a changing perspective from novel treatments?*

**Front Neurol.** 2024 Jun 4;15:1299205. doi: 10.3389/fneur.2024.1299205. PMID: 38895692; PMCID: PMC11184139. **IF 2.7**

**7. Modelli *in vivo* di Charcot-Marie-Tooth di tipo 2A: aggiornamenti attuali (Abati et al., 2024)** La Charcot-Marie-Tooth di tipo 2A (CMT2A) è una neuropatia sensomotoria ereditaria associata a mutazioni nel gene della mitofusina 2 (MFN2). Queste mutazioni compromettono il normale funzionamento mitocondriale attraverso diversi meccanismi, disturbando l'equilibrio tra fusione e fissione mitocondriale, la mitofagia e il trasporto assonale mitocondriale. Sebbene la CMT2A causi una disabilità significativa, ad oggi non esiste un trattamento risolutivo. In questo contesto, è essenziale disporre di modelli sperimentali affidabili per analizzare con precisione i meccanismi molecolari della malattia e mettere a punto strategie terapeutiche efficaci. I modelli più comunemente utilizzati sono *in vitro* o *in vivo*, e tra questi ultimi i modelli murini sono di gran lunga

i più versatili e popolari. In questo lavoro, abbiamo rivisto criticamente la letteratura più rilevante incentrata sui modelli sperimentali, fornendo un aggiornamento sui modelli di mammifero della CMT2A sviluppati fino ad oggi. Abbiamo evidenziato le diverse caratteristiche fenotipiche, istopatologiche e molecolari e il loro utilizzo negli studi traslazionali per portare potenziali terapie dal banco al letto del paziente. Inoltre, abbiamo discusso i limiti di questi modelli e le prospettive di miglioramento futuro.

Abati E, Rizzuti M, Anastasia A, Comi GP, Corti S, Rizzo F.

*Charcot-Marie-Tooth type 2A in vivo models: Current updates.*

**J Cell Mol Med.** 2024 May;28(9):e18293. doi: 10.1111/jcmm.18293. PMID: 38722298; PMCID: PMC11081012. **IF 4.3**

## **8. Sfruttare il potenziale dei terapeutici a base di mRNA per le malattie neurologiche ereditarie (Monfrini et al., 2024)**

Le malattie neurologiche monogeniche con perdita di funzione sono disturbi ereditari derivanti da mutazioni geniche che riducono o aboliscono la normale funzione della proteina codificata. Queste condizioni pongono sfide terapeutiche significative, che possono essere risolte attraverso lo sviluppo di strategie terapeutiche innovative. Le tecnologie basate sull'RNA, come la terapia sostitutiva dell'mRNA, sono emerse come trattamenti promettenti e sempre più praticabili. In particolare, la terapia a base di mRNA presenta un potenziale significativo come approccio nei confronti delle mutazioni, in grado di affrontare virtualmente qualsiasi malattia monogenica con perdita di funzione. L'mRNA terapeutico trasporta le informazioni per una copia sana della proteina difettosa, aggirando il problema di indirizzare le varianti genetiche specifiche. Inoltre, a differenza della terapia genica convenzionale, i farmaci a base di mRNA vengono somministrati attraverso un processo semplificato che richiede solo il trasferimento nel citoplasma, riducendo così i rischi mutageni legati all'integrazione del DNA. Inoltre, la terapia a base di mRNA esercita un effetto transitorio sulle cellule bersaglio, riducendo al minimo il rischio di conseguenze indesiderate a lungo termine. Il notevole successo della tecnologia dell'mRNA per lo sviluppo di vaccini contro la malattia da coronavirus 2019 ha riacceso l'interesse per l'mRNA come metodo economico per la somministrazione di proteine terapeutiche. Tuttavia, è necessaria un'ulteriore ottimizzazione per migliorare il rilascio di mRNA, in particolare nel sistema nervoso centrale, riducendo al minimo le reazioni avverse ai farmaci e la tossicità. In questa revisione completa, abbiamo approfondito le applicazioni passate, presenti e in corso della terapia a base di mRNA per le malattie neurologiche monogeniche con perdita di funzione. Discutiamo anche le promesse e le potenziali sfide presentate dalla terapia a base di mRNA in questo campo in rapida evoluzione. In definitiva, sottolineiamo il potenziale della terapia a base di mRNA come approccio terapeutico innovativo per i disturbi neurologici.

Monfrini E, Baso G, Ronchi D, Meneri M, Gagliardi D, Quetti L, Verde F, Ticozzi N, Ratti A, Di Fonzo A, Comi GP, Ottoboni L, Corti S.

*Unleashing the potential of mRNA therapeutics for inherited neurological diseases.*

**Brain.** 2024 Sep 3;147(9):2934-2945. doi: 10.1093/brain/awae135. PMID: 38662782. **IF 11.9**

## **9. Sintesi migliorata e applicazione di un analogo isoprenoide alchinico funzionalizzato per studiare i prenilomi di motoneuroni, astrociti e i loro progenitori staminali (Suazo et al., 2024)**

La prenilazione delle proteine è un esempio di un'ampia classe di modifiche post-traslazionali in cui le proteine sono legate covalentemente a varie molecole idrofobiche. Per identificare e monitorare globalmente i livelli di tutte le proteine prenilate in una cellula simultaneamente, il nostro laboratorio e altri hanno sviluppato approcci di proteomica chimica che si basano sull'incorporazione metabolica di analoghi isoprenoidi con funzionalità bio-ortogonali, seguita da arricchimento e successiva analisi proteomica quantitativa. In questo lavoro, vengono riportati diversi miglioramenti nella sintesi dell'analogo isoprenoide contenente alcheni C15AlkOPP per migliorare l'efficienza della sintesi.

Successivamente, la marcatura metabolica con C15AlkOPP è stata ottimizzata per ottenere livelli utili di incorporazione metabolica della sonda in diversi tipi di cellule primarie. Queste condizioni sono state poi utilizzate per studiare i prenilomi dei motoneuroni (ES-MN), degli astrociti (ES-As) e dei loro progenitori di cellule staminali embrionali (ESC), che hanno permesso di identificare 54 proteine prenilate dalle ESC, 50 dalle ES-MN e 84 dalle ES-As, che rappresentano tutti i tipi di prenilazione. L'analisi bioinformatica ha rivelato percorsi specifici arricchiti, tra cui lo sviluppo del sistema nervoso, la segnalazione di chemochine, la segnalazione di Rho GTPasi e l'adesione. Il clustering gerarchico ha mostrato che la maggior parte dei percorsi arricchiti in tutti e tre i tipi di cellule sono legati all'attività delle GTPasi e al trasporto vescicolare. Al contrario, l'analisi STRING ha mostrato interazioni significative in due popolazioni che sembrano dipendere dal tipo di cellula. I dati qui forniti dimostrano che è possibile ottenere una robusta incorporazione di C15AlkOPP nelle ES-MN e nelle relative cellule primarie purificate mediante selezione cellulare ad attivazione magnetica, consentendo l'identificazione e la quantificazione di numerose proteine prenilate. Questi risultati suggeriscono che la marcatura metabolica con C15AlkOPP potrebbe essere un approccio efficace per studiare il ruolo delle proteine prenilate nelle cellule primarie sia nelle cellule normali che nelle patologie, compresa la SLA.

Suazo KF, Mishra V, Maity S, Auger SA, Justyna K, Petre AM, Ottoboni L, Ongaro J, Corti SP, Lotti F, Przedborski S, Distefano MD.

*Improved synthesis and application of an alkyne-functionalized isoprenoid analogue to study the prenylomes of motor neurons, astrocytes and their stem cell progenitors.*

**Bioorg Chem.** 2024 Jun;147:107365. doi: 10.1016/j.bioorg.2024.107365. Epub 2024 Apr 16. PMID: 38636436; PMCID: PMC11653755. **IF 4.5**

#### **10. Trattamento precoce dell'atrofia muscolare spinale dopo lo screening neonatale: Un bilancio di 20 mesi della prima esperienza regionale italiana (Gagliardi et al., 2024)**

Lo screening neonatale obbligatorio (NBS) per l'atrofia muscolare spinale (SMA) è stato implementato per la prima volta in Italia alla fine del 2021, consentendo l'identificazione e il trattamento dei pazienti in fase asintomatica. I campioni di DNA estratti da campioni di sangue secco (DBS) di neonati della regione Puglia sono stati analizzati per lo screening della SMA utilizzando un test basato sulla PCR real-time. I neonati che presentavano una delezione omozigote dell'esone 7 di SMN1, confermata da test molecolari diagnostici, sono stati sottoposti a valutazione clinica e neurofisiologica e hanno ricevuto un trattamento tempestivo. Nei primi 20 mesi dall'introduzione della NBS regionale, quattro bambini su 42.492 (0,009%) sottoposti a screening sono risultati portatori di una delezione omozigote nell'esone 7 del gene SMN1, con un'incidenza annua di 1:10,623. Non sono stati riscontrati falsi negativi. L'età mediana alla diagnosi era di 7 giorni e l'età mediana al trattamento era di 20,5 giorni. Tre di loro avevano due copie di SMN2 e hanno ricevuto la terapia genica, mentre quello con tre copie di SMN2 è stato trattato con nusinersen. Tutti, tranne uno, erano asintomatici alla nascita, non hanno mostrato segni clinici di malattia dopo un follow-up massimo di 16 mesi e hanno raggiunto tappe motorie adeguate alla loro età. L'intervallo minimo tra la diagnosi e l'inizio del trattamento è stato di 9 giorni. La somministrazione tempestiva di terapie modificanti la malattia ha impedito ai soggetti presintomatici di sviluppare i sintomi della malattia. La NBS obbligatoria per la SMA dovrebbe essere implementata su scala nazionale.

Gagliardi D, Canzio E, Orsini P, Conti P, Sinisi V, Maggiore C, Santarsia MC, Lagioia G, Lupis G, Roppa I, Scianatico G, Mancini D, Corti S, Comi GP, Gentile M, Gagliardi D.

*Early spinal muscular atrophy treatment following newborn screening: A 20-month review of the first Italian regional experience.*

**Ann Clin Transl Neurol.** 2024 May;11(5):1090-1096. doi: 10.1002/acn3.52018. Epub 2024 Apr 10. PMID: 38600653; PMCID: PMC11093231. **IF 4.4**

## **11. Malattia di Charcot-Marie-tooth di tipo 2A: un aggiornamento sulla patogenesi e sulle prospettive terapeutiche (Alberti et al., 2024)**

Mutazioni nel gene che codifica per la MFN2 sono state identificate come associate alla malattia di Charcot-Marie-Tooth di tipo 2A (CMT2A), una malattia neurologica caratterizzata da un ampio fenotipo clinico che coinvolge l'intero sistema nervoso. MFN2, una proteina GTPasi simile alla dinamina situata sulla membrana mitocondriale esterna, è nota per il suo coinvolgimento nella fusione mitocondriale. Numerosi studi hanno dimostrato la sua partecipazione a una rete cruciale per varie altre funzioni mitocondriali, tra cui la mitofagia e il trasporto assonale, e il suo ruolo controverso nei contatti tra reticolo endoplasmatico (ER) e mitocondri. Negli ultimi tre decenni sono stati compiuti notevoli progressi nella delucidazione della patogenesi della malattia, aiutati dalla generazione di modelli animali e cellulari che sono stati fondamentali per lo studio della fisiologia della malattia. Una revisione della letteratura rivela che, ad oggi, non è stato stabilito un trattamento farmacologico definitivo per nessuna variante della CMT2A; tuttavia, negli ultimi anni si sono registrati progressi sostanziali. Molti approcci terapeutici, soprattutto per quanto riguarda la terapia molecolare, come gli inibitori dell'istone deacetilasi, la terapia peptidica per aumentare la fusione mitocondriale, le nuove strategie terapeutiche basate sull'equilibrio MF1/MF2 e gli inibitori di SARM1, sono attualmente in fase di sperimentazione preclinica. La letteratura sulle terapie di silenziamento e sostituzione genica è ancora limitata, ad eccezione di un recente studio di Rizzo et al (Rizzo et al., 2023), che ha ottenuto per la prima volta risultati incoraggianti in modelli in vitro e in vivo della malattia. L'obiettivo del prossimo futuro per queste terapie promettenti è quello di passare alla fase di traduzione clinica.

Alberti C, Rizzo F, Anastasia A, Comi G, Corti S, Abati E.

*Charcot-Marie-tooth disease type 2A: An update on pathogenesis and therapeutic perspectives.*

**Neurobiol Dis.** 2024 Apr;193:106467. doi: 10.1016/j.nbd.2024.106467. Epub 2024 Mar 5. PMID: 38452947. **IF 5.1**

## **12. Modellare l'unità neurovascolare sfruttando gli organoidi del cervello umano (Rizzuti et al., 2024)**

Gli organoidi cerebrali, strutture cellulari tridimensionali derivate da cellule staminali pluripotenti, riproducono gli aspetti chiave del cervello umano in vitro, fornendo un potente strumento per lo studio del neurosviluppo e delle malattie. Il protocollo di induzione neuroectodermica utilizzato per la generazione di organoidi cerebrali dà origine principalmente alla componente cellulare neurale, ma manca del sistema vascolare vitale, che è cruciale per le funzioni cerebrali regolando il differenziamento, la migrazione e la formazione dei circuiti, oltre a fornire ossigeno e nutrienti. Molte malattie neurologiche sono causate da disfunzioni del microcircolo cerebrale, il che rende la vascolarizzazione degli organoidi cerebrali umani uno strumento importante per la ricerca patogenetica e traslazionale. A livello sperimentale, la creazione di organoidi cerebrali vascolarizzati si è concentrata principalmente sulla fusione di organoidi vascolari e cerebrali, sul trapianto di organoidi in vivo e sull'uso di dispositivi microfluidici per replicare in vitro l'intricato microambiente del cervello umano. Questa revisione riassume questi sforzi e sottolinea l'importanza dello studio dell'unità neurovascolare nella prospettiva lungimirante di sfruttarne l'uso per la comprensione e il trattamento dei disturbi neurologici.

Rizzuti M, Melzi V, Brambilla L, Quetti L, Sali L, Ottoboni L, Meneri M, Ratti A, Verde F, Ticozzi N, Comi GP, Corti S, Abati E.

*Shaping the Neurovascular Unit Exploiting Human Brain Organoids.*

**Mol Neurobiol.** 2024 Sep;61(9):6642-6657. doi: 10.1007/s12035-024-03998-9. Epub 2024 Feb 9. PMID: 38334812; PMCID: PMC11338975. **IF 4.6**



## **Abstract presentati a congressi scientifici nazionali e internazionali**

Corti S.

*Exploring therapeutic mechanisms of Risdiplam-like compounds in SMA through a 3D.*

**SMA Connectome**, 26 Gennaio 2024. Roma, Italia.

D'Angelo A, Beatrice F, Ongaro J, Rizzo F, Ottoboni L, Corti S.

*3D-stem cell spinal cord model to study timing and cell type specific molecular consequence of risdiplam-like treatment.*

**4th Scientific International Congress on Spinal Muscular Atrophy (SMA Europe 2024)**, 14-16 Marzo 2024, Ghent, Belgio.

Pagliari E, Quetti L, Sali L, Taiana M, Bertolasi L, Corti S, Ottoboni L, Nizzardo M, Rizzo F.  
*Stathmin-2 as a novel SMN-independent therapeutic target in in vitro and in vivo SMA models.*

**4th Scientific International Congress on Spinal Muscular Atrophy (SMA Europe 2024)**, 14-16 Marzo 2024, Ghent, Belgio.

Santonicola P, La Rocca F, Cieri F, Onorato G, Rizzuti M, Zampi G, Nizzardo M, Corti S, Di Schiavi E.  
*Splicing regulation of Reticulon is involved in preventing neurodegeneration in a C elegans model of SMA.*

**4th Scientific International Congress on Spinal Muscular Atrophy (SMA Europe 2024)**, 14-16 Marzo 2024, Ghent, Belgio.

Corti S. *Insights from other diseases (in context of gene therapy)*, workshop.

**4th Scientific International Congress on Spinal Muscular Atrophy (SMA Europe 2024)**, 14-16 Marzo 2024, Ghent, Belgio (Presentazione Orale).

Corti S.

*SMA: cellular models*, workshop,

**4th Scientific International Congress on Spinal Muscular Atrophy (SMA Europe 2024)**, 14-16 Marzo 2024, Ghent, Belgio (Presentazione Orale).

Abati E, Rimoldi M, Lucchiari S, Pagliarani S, D'Angelo G, Liguori R, Logullo FO, Pegoraro E, Sansone V, Santoro L, Scarlato M, Siciliano G, Silvestri G, Vita G, Comi GP, Corti S, Meola G.  
*Assessing the phenotype and genotype of a wide Italian DM1 and DM2 cohort: results from the Italian Myotonic Dystrophies National Registry.*

**14th International Myotonic Dystrophy Consortium Meeting**, 9-13 Aprile 2024, Nijmegen, The Netherlands.

Abati E, Tambè V, Esseridou A, Corti S, Comi GP, Meola G, Secchi F.

*Cardiac risk and myocardial fibrosis assessment with Cardiac Magnetic Resonance in patients with Myotonic Dystrophy.*

**14th International Myotonic Dystrophy Consortium Meeting**, 9-13 Aprile 2024, Nijmegen, The Netherlands.

Abati E, Saccomanno D, Anastasia A, Alberti C, D'Angelo G, Bassi MT, Comi GP, Corti S, Rizzo F.

*Neurofilament light chain as clinical plasma biomarker of Charcot-Marie-Tooth disease*,  
**Quattordicesima Riunione Nazionale Sistema Nervoso Periferico**, 30 Maggio - 1 Giugno 2024, Trieste, Italia.

Sali L, Quetti L, De Gioia R, Nizzardo M, Ottoboni L, Rizzo F, Corti S, Comi GP.

*Targeting Upper Motor Neurons: A Cutting-Edge Neural Stem Cell Therapy for Amyotrophic Lateral Sclerosis.*

**ENCALS 2024**, 17-20 Giugno 2024, Stoccolma, Svezia (**ENCALS POSTER AWARD 2024**).

Corti S.

*Transforming Neurological Care: The Rise of Antisense Oligonucleotide Therapy.*

**ENCALS 2024**, 25-26 Giugno 2024, Milano, Italia (Presentazione Orale).

Abati E, Alberti C, Tambè V, Esseridou A, Corti S, Comi GP, Meola G, Secchi F. *Cardiac risk and myocardial fibrosis assessment with Cardiac Magnetic Resonance in patients with Myotonic Dystrophy.* **XXIV Congresso Nazionale Associazione Italiana di Miologia (AIM)**, 5-8 Giugno 2024, Roma, Italia.

Alberti C, Saccomanno D, Anastasia A, D'Angelo G, Bassi MT, Quetti L, Sali L, Brambilla L, Romano A, Comi GP, Rizzo F, Corti S, Abati E.

*Neurofilament light chain as clinical plasma biomarker of Charcot-Marie-Tooth disease.*

**XXIV Congresso Nazionale Associazione Italiana di Miologia (AIM)**, 5-8 Giugno 2024, Roma, Italia.

Iacobelli V, Rimoldi M, Lucchiari S, Pagliarani S, D'Angelo S, Liguori R, Logullo FO, Pegoraro E, Sansone V, Santoro L, Scarlato M, Siciliano G, Silvestri G, Vita G, Comi GP, Corti S, Meola G, Abati E.

*Assessing the phenotype and genotype of a wide Italian DM1 and DM2 cohort: results from the Italian Myotonic Dystrophies National Registry.*

**XXIV Congresso Nazionale Associazione Italiana di Miologia (AIM)**, 5-8 Giugno 2024, Roma, Italia.

Quetti L, Sali L, Contardo M, De Gioia R, Nizzardo M, Ottoboni L, Rizzo F, Corti S, Comi GP. *Targeting Upper Motor Neurons: An Innovative Neural Stem Cell Treatment for Amyotrophic Lateral Sclerosis.*

**XXIV Congresso Nazionale Associazione Italiana di Miologia (AIM)**, 5-8 Giugno 2024, Roma, Italia.

Beatrice F, D'Angelo A, Ongaro J, Rinchetti P, Faravelli I, Miotto M, Lodato S, Nizzardo M, Ottoboni L, Corti S. *A three-dimensional spinal cord model from stem cells to explore the therapeutic mechanisms of Risdiplam-like compound in Spinal Muscular Atrophy.* **28<sup>th</sup> Annual SMA Research & Clinical Care Meeting (CureSMA)**, 6-9 Giugno 2024, Austin (Texas), USA.

Rizzuti M, Gagliardi D, Melzi V, Sironi F, Ottoboni L, Sali L, Saccomanno D, Masrori P, Ratti A, Comi GP, Van Damme P, Ticozzi N, Silani V, Verde F, Corti S.

*Integrated miRNA approaches for ALS diagnosis and therapeutic targeting.*

**European network to cure ALS (ENCALS) 2024**, 17-20 Giugno 2024, Stoccolma, Svezia.

Di Fede E, Taci E, Castiglioni S, Ancona S, Grazioli P, Ottoboni L, Parodi C, Colombo EA, Toscani A, Rasetti S, Bernardelli C, Lesma E, Nizzardo M, Corti S, Priori A, Massa V, Lettieri A, Gervasini C.

*p300 modulation in 2D and 3D in vitro models of premature cellular senescence.*

**SIGU 2024**, 2-4 Ottobre Padova, Italia.

D'Angelo A, Beatrice F, Ongaro J, Rinchetti P, Faravelli I, Miotto M, Lodato S, Nizzardo M, Comi GP, Ottoboni L, Corti S.

*Exploring Therapeutic Mechanisms of Risdiplam Analogues in Spinal Muscular Atrophy Using a Three-Dimensional Stem Cell-Derived Spinal Cord Model.*

**Society of Neuroscience 2024.** 5-9 Ottobre, Chicago, USA

Elia CA, Bariselli S, Borreca A, Fossati M, Leonzino M, Grassi R, Raya I, Franzone D, Airi F, El Bouatmani M, Pozzi D, Ceccacci F, Rasile M, Lauranzano E, Rusconi R, Asselta R, Ottoboni L, Corti S, Matteoli M, Lodato S, Malosio ML.

*Integrating different approaches for establishing a multi scale functional validation platform for RNA-based drugs in the CNS (MULTIVAL).*

**FENS Forum 2024,** 25-29 Giugno 2024, Vienna, Austria.

Corti S, D' Angelo A, Beatrice F, Ongaro J, Rinchetti P, Faravelli I, Miotto M, Lodato S, Nizzardo M, Comi G, Ottoboni L.

*3D stem cell-derived spinal cord/muscle organoid model for studying and treating neuromuscular diseases.*

**World Muscle Society 2024,** 8-12 Praga, Cecoslovacchia.

Grazioli P, Parodi C, Lettieri A, Di Fede E, Castiglioni S, Taci E, Colombo EA, Brambilla L, Luca Sali L, Quetti L, Fazio G, Rebellato S, Mariani M, Selicorni A, Nizzardo M, Corti S, Conti L, Gervasini C, Massa V.

*2D and 3D modeling for studying Cornelia de Lange syndrome: lithium beneficial effects.*

**ABCD 2024 RNA Biology and Systems Medicine,** 25 - 26 October 2024, Bologna, Italia.

Corti S.

*Advancing CNS Organoid Models for Motor Neuron Disease Research.*

**iPSC Modelling in Neuromuscular Disorders, (iMND),** 23-25 Ottobre 2024, Leuven, Belgio.

Gagliardi D, Rizzuti M, Melzi V, Sironi F, Romano A, Ottoboni L, Meneri M, Van Damme P, Ratti A, Comi GP, Verde F, Ticozzi N, Silani V, Corti S.

*Integrated miRNA Profiling for ALS Diagnosis and Therapeutic Targeting.*

**IV ANNUAL MEETING RETE RIN IRCCS.** 21-22 Novembre 2024, Genova, Italia.

Corti S, D' Angelo A, Beatrice F, Ongaro J, Cordiglieri C, Miotto M, Lodato S, Rizzo F, Comi G, Ottoboni L.

*Stem cell-derived spinal cord organoid model to study the molecular consequences of treatment with a risdiplam analogue in specific time windows and cell-specific manner.*

**IV ANNUAL MEETING RETE RIN IRCCS.** 21-22 Novembre 2024, Genova, Italia.

Sironi F, Romano A, Ottoboni L, Rizzuti M, Melzi V, Gagliardi D, Verde F, Ratti A, Comi GP, Ticozzi N, Silani V, Corti S. miR-129-5p: *A key factor and therapeutic target in Amyotrophic Lateral Sclerosis.* **Convegno AriSLA,** 22-23 Novembre 2024, Milano, Italia.

Galli N, Rizzuti M, Ongaro J, Ottoboni L, Nizzardo M, Comi G, and Corti S.

*Multi-OMICs approaches to characterize patient-derived spinal cord organoids and assess novel genes associated with C9orf72-Amyotrophic Lateral Sclerosis.*

**Convegno AriSLA,** 22-23 Novembre 2024, Milano, Italia.

Quetti L, Sali L, Nizzardo M, Ottoboni L, Rizzo R, Corti S, Comi GP.

*Targeting upper motor neurons: a cutting-edge neural stem cell therapy for amyotrophic lateral sclerosis.*

**Convegno AriSLA**, 22-23 Novembre 2024, Milano, Italia.

D'Angelo A, Beatrice F, Ongaro J, Rinchetti P, Faravelli I, Miotto M, Lodato S, Nizzardo M, Ottoboni L, Corti S.

*A three-dimensional spinal cord model from patient specific induced pluripotent stem cells to explore the therapeutic and molecular mechanisms of Risdiplam-like compound in Spinal Muscular Atrophy.*

**Development & 3D Modeling of the Human Brain**. 9-12 Dicembre 2024 Cold Spring Harbour, New York.

## **FINANZIAMENTI PER PROGETTI DI RICERCA OTTENUTI DA ENTI PUBBLICI O PRIVATI**

Roche no profit Grant (2023-2025): *Unravelling Risdiplam therapeutic effect on SMA 3D human stem cell neuromuscular unit.*

Progetto Bando Interno Policlinico (2022-2025): *3D modelling of neuromuscular unit to discover pathogenetic mechanisms and therapeutics for motor neuron diseases.*

Fondazione Cariplo (2022-2024): *Stathmin-2 in Spinal Muscular Atrophy (SMA): assessing molecular and therapeutic role in SMA human and murine models* (2020-3623).

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).

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).

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).*

Ministero dell'Università e della Ricerca, PRIN 2022 (2022-2025). *Central nervous system organoids and assembloids to unravel the spreading of TDP-43 pathology along corticospinal tract in ALS.*

Ministero dell'Università e della Ricerca, PNRR-PRIN 2022 (2022-2025).

*Uncovering spatial and temporal sequence of neurodegeneration in a 3D model of corticospinal-neuromuscular unit of Amyotrophic Lateral Sclerosis*

Ministero dell'Università e della Ricerca, PNRR-CN3 (2023-2026): *Targeting c9Orf72-G4C2 repeats to mitigate c9ORF72 and ATNX2 RNA toxicity.*

Ministero della Salute, Finanziamento nazionale M6/C2 PNRR-PoC (2023-2025). *Targeting miR129 as therapy for Amyotrophic Lateral Sclerosis* (2022-12375645).

Fondazione Telethon (2024-2026): *Treating CMT2A: MFN1 Gene Enhancement as a Therapeutic Strategy.*

Ministero della Salute, Finanziamento nazionale PNRR-PoC (2024-2026). *Advanced multi-omic and -system approaches to identify novel biomarkers for SMA*

AMICUS no profit (2024-2025): *Advanced Level III Training in Diagnosis, Treatment, and Research of Pompe Disease and Other Neuromuscular Diseases.*

COLLABORAZIONI SCIENTIFICHE IN ATTO CON ISTITUTI NAZIONALI ED INTERNAZIONALI

**Columbia University, NY, USA.** Prof. S. Przedborski, director of the Center, and Prof. D. Re. *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)*

**The Research Institute at Nationwide Children's Hospital/ The Ohio State University, Center for Gene Therapy, Columbus, Ohio, USA.** Prof. Kathrin Mayer, Ph.D, Professore Associato. *Studio di nuovi approcci di terapia genica per l'Atrofia Muscolare Spinale (SMA) e l'atrofia muscolare spinale con Distress Respiratorio (SMARD1).*

**Department of Biochemistry and Biophysics, University of Stockholm, Sweden.** Prof. Eva Hedlund, PhD. *"Identificazione di molecole con un ruolo neuroprotettivo nelle malattie del motoneurone.*

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

**EURALS Consortium.** *"European ALS population study",*

*"Sviluppo di una strategia terapeutica per mitofusinosi" in collaborazione con l'Associazione Mitofusina 2 (<http://www.progettomitofusina2.com/it/associazione>).*

**IRCCS E. Medea Bosisio, Parini, Italia.** Dr. Uberto Pozzoli. *Basi molecolari della SMA.*

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

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

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

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

**Institut Imagine, Parigi, Francia.** Prof. Michela Deleidi.

**University of Leuven.** Prof. Philip Van Damme.

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

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

**Humanitas Research Center, Milano.** Dr. Simona Lodato.

**Centre De Recherche En Myologie, Parigi, Francia.** Dr. Marisa Cappella

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

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

**Università di Trento, Trento,** Prof. Alessandro Provenzano

**Università' di Genova, Istituto Gaslini, Genova, Prof. Claudio Bruno**

**Niguarda, CENTRO CLINICO NeMO Fondazione Serena Onlus, Milano, Dr. Cerri Federica.**

**Università' di Milano, Milano, Prof. Angelo Poletti.**

**Univesita' della Campania-Vanvitelli, Caserta, Prof. Alessandro Usiello.**

**Manava Plus, Milano**

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.

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. Francesca Magri

Dott. Maurizio Moggio (Consulente)

Dott. Alberto Lerario (Consulente)

### **BIOLOGI**

Dott. Laura Napoli

Dott. Simona Zanotti

Dott. Michela Ripolone

### **TECNICI**

Dott. Patrizia Ciscato

Dott. Letizia Bertolasi

### **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 SSD 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 bioptiche muscolari e di nervo periferico.

Gli ambulatori afferenti dalla SSD sono: Ambulatorio per le Malattie Neuromuscolari e Rare Ambulatorio per le Neurofibromatosi e Ambulatorio per il Motoneurone. Gli Ambulatori hanno come scopo la valutazione e la presa in cura di pazienti affetti da malattie neuromuscolari o con tale sospetto. Il Day Hospital (DH) della SSD si occupa della visita dei pazienti e della somministrazione delle cure previste dal piano terapeutico.

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".

La SSD ha superato il 01 Giugno 2023 l'accreditamento da parte della UE come European Reference Network for Neuromuscular Diseases, accreditamento che solo 8 centri hanno avuto in Italia, e pochi altri in Europa e che tiene conto sia delle attività clinico assistenziali, sia di quelle relative al Laboratorio di Diagnostica istopatologica nell'ambito delle malattie rare neuromuscolari. Il Laboratorio della SSD ha poi ottenuto la conferma come SMeL da parte di Regione Lombardia a dicembre 2022.

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

Durante l'anno 2024 sono state studiate e refertate 116 biopsie di muscolo scheletrico e 7 biopsie di nervo periferico.

Tutte le biopsie di pazienti col sospetto clinico di distrofia sono state studiate anche con metodiche immunoistochimiche 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 1080 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 biotipici 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 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. 4 centri di diagnostica e ricerca sia nazionali, sia internazionali. Sono state effettuate spedizioni per un totale di n. 45 campioni biologici (tessuti muscolari, DNA, colture).

Il laboratorio provvede alla tecnicazione delle biopsie, alla refertazione delle medesime, alla loro conservazione nella Biobanca della SSD 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

- **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

- **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 sono stati stratificati in base alla presenza delle tre principali varianti di rischio nei geni PNPLA3, TMC4 e TM6SF2. Le biopsie sono state studiate mediante microscopia elettronica, allo scopo di valutare il livello di steatosi, il possibile danno al reticolo, il numero e la morfologia dei mitocondri. Per questo progetto è già in corso la stesura di una pubblicazione scientifica.
- **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 sono state studiate mediante microscopia elettronica, allo scopo di valutare il livello di steatosi, il possibile danno al reticolo, il numero e la morfologia dei mitocondri. Per questo progetto è già in corso la stesura di una pubblicazione scientifica.
- **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, sono state studiate biopsie epatiche provenienti da Fegati prelevati da ratti e sottoposti a diversi protocolli di perfusione. I campioni sono stati studiati mediante analisi

ultrastrutturale in microscopia elettronica, allo scopo di valutare la morfologia e la qualità del tessuto. Per questo progetto è già in corso la stesura di una pubblicazione scientifica.

- **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. Abbiamo analizzato le 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 ci hanno consentito di migliorare la caratterizzazione dei pazienti e hanno fornito informazioni importanti per identificare biomarcatori per gli studi clinici farmacologici, in cui le modifiche alla biopsia muscolare rientrano tra i parametri di valutazione. In aggiunta, saranno valutati 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. Per questo progetto è già in corso la stesura di una pubblicazione scientifica.

- **Applicazione della Proteomica Spaziale nelle miopatie infiammatorie.**

Lo scopo di questo progetto è quello di espandere la caratterizzazione di diversi tipi di miopatie infiammatorie in particolare per gli aspetti legati all'alterazione dell'omeostasi della matrice extracellulare, la componente infiammatoria e il network vascolare (angiogenesi e linfoangiogenesi).

A questo scopo sarà utilizzata 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 di fibrosi, infiammazione e vascolarizzazione. A questo scopo è stato individuato un pannello di 35 anticorpi per i quali sono già state messe a punto le condizioni preliminari. I dati che otterremo consentiranno di comprendere le differenze tra soggetti affetti da diversi tipi sierologici di miopatie infiammatorie.

- **Applicazione della Proteomica Spaziale nella malattia di Pompe.**

Lo scopo di questo progetto è quello di meglio definire la via autofagica nei pazienti Pompe prima e dopo il trattamento farmacologico con ERT, attraverso l'innovativo approccio che prevede l'applicazione della proteomica spaziale tramite piattaforma MACSima. A questo scopo saranno studiate le biopsie muscolari, effettuate prima e dopo l'inizio del trattamento farmacologico, di 4 pazienti Pompe tramite la contemporanea valutazione di espressione e localizzazione nel tessuto muscolare di 25 anticorpi. Disponiamo delle suddette biopsie in quanto parte di uno studio precedente (Ripolone et al, Neuropathol Appl Neurobiol. 2018) e attualmente conservate nella nostra Biobanca. Questo innovativo approccio permetterà anche di valutare in modo specifico aree

limitate della biopsia (fibre conservate versus fibre compromesse) e di confrontarle per l'espressione dei diversi marcatori analizzati. Saranno investigati sulla stessa sezione di biopsia muscolare diversi pathways correlati con l'autofagia, tra cui l'apoptosi e l'atrofia fibrile. I dati forniranno una migliore comprensione del processo autofagico, evidenziando le differenze di risposta al farmaco tra i vari pazienti. Lo studio potrebbe anche consentire di individuare biomarcatori da poter essere utilizzati per il monitoraggio della malattia o per prevedere la risposta al trattamento. Inoltre, analizzando la distribuzione di vari marcatori, si potrebbero identificare nuove vie molecolari coinvolte nella malattia di Pompe. Queste scoperte potrebbero portare allo sviluppo di nuovi farmaci o terapie mirate, migliorando le possibilità di trattamento per i pazienti.

#### ▪ **Valutazione longitudinale miRNA in sieri LGMD**

Il progetto si basa su uno studio precedente da noi condotto (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). In questo studio, abbiamo analizzato i livelli di espressione di 179 miRNA sierici in pazienti affetti da diverse forme di distrofie dei cingoli, confrontandoli con quelli di soggetti sani. Nell'ambito di questo nuovo progetto, gli stessi pazienti sono stati sottoposti a prelievi periodici durante il loro percorso clinico, al fine di valutare nuovamente l'espressione del medesimo pannello di miRNA a un intervallo di almeno 3 anni.

L'obiettivo è duplice: confermare i risultati ottenuti nello studio iniziale e approfondire come l'espressione dei miRNA possa variare con la progressione della patologia. Ciò potrebbe consentire di identificare biomarcatori sierici, minimamente invasivi, utili per monitorare l'evoluzione della malattia e di analizzare correlazioni tra l'espressione di questi miRNA e gli aspetti clinici. Inoltre, lo studio dei geni target dei miRNA identificati permetterà anche di estendere la conoscenza dei meccanismi patogenetici alla base di queste malattie.

#### ▪ **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.

Per quanto attiene al ruolo del nostro laboratorio, nel 2024 abbiamo raggiunto il numero di 15 pazienti biopsiati, per i quali è stato possibile collezionare campioni di muscolo diaframma, pettorale e intercostale, oltre a campioni ematici per studi biochimici. Le indagini preliminari sono in linea con quanto già disponibile in letteratura ed evidenziano un'iniziale ipotrofia delle fibre muscolari e una disfunzione mitocondriale. La raccolta di ulteriori campioni è tuttora in corso.

#### ▪ **Studio di nuove varianti patologiche di Ryr1 in pazienti affetti da Dusty Core Disease.**

Le Core Myopathies sono malattie muscolari congenite caratterizzate da eterogeneità clinica, patologica e genetica. La caratteristica principale osservabile nella biopsia muscolare scheletrica è la presenza di “core”, ovvero aree con disorganizzazione miofibrillare variabile e ridotta attività enzimatica ossidativa a livello focale, indicativa di una carenza di mitocondri. Tradizionalmente, queste miopatie sono classificate come Central Core Disease, Multi-minicore Disease e Core-rod Myopathy. La Dusty Core Disease, DuCD è l'ultima forma di miopatia a core identificata, si distingue per la presenza di aree irregolari senza confini netti di forma rotonda o ovoidale. La disorganizzazione miofibrillare si caratterizza per la deposizione di materiale granulare rosso-violaceo, che mostra una colorazione ossidativa disomogenea, e per l'assenza di attività ATPasica. Ad oggi, la DuCD è stata associata a mutazioni bialleliche recessive del gene RYR1. Il gene RYR1 codifica per il recettore della rianodina di tipo 1, un canale del reticolo sarcoplasmatico che interagisce con il recettore della diidropiridina (DHPR) situato nel tubulo T. Questa interazione è essenziale per il processo di accoppiamento eccitazione-contrazione nel muscolo scheletrico. Per questo studio abbiamo già analizzato gli aspetti clinici, le caratteristiche patologiche e lo spettro mutazionale di quattro pazienti con mutazioni del gene RYR1, che presentano caratteristiche istologiche e immunologiche riconducibili alla Dusty Core Disease. I pazienti sono stati selezionati da una coorte di individui affetti da Miopatia Congenita e sottoposti ad analisi di Next Generation Sequencing (NGS) con riscontro di nuove varianti genetiche che abbiamo validato utilizzando tecniche istologiche, immunologiche e ultrastrutturali. È già in corso la stesura di una pubblicazione scientifica relativa a questi quattro pazienti, collateralmente prosegue lo screening di eventuali altri pazienti con caratteristiche riconducibili alla patologia.

### **PRODUTTIVITÀ SCIENTIFICA ANNO 2024**

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 2024 i seguenti risultati:

#### **Pubblicazioni 2024 SSD Malattie Neuromuscolari e Rare**

Mistretta M, Fiorito V, Allocco AL, Ammirata G, Hsu MY, Digiovanni S, Belicchi M, Napoli L, Ripolone M, Trombetta E, Mauri P, Farini A, Meregalli M, Villa C, Porporato PE, Miniscalco B, Crich SG, Riganti C, Torrente Y, Tolosano E.

*Flvcr1a deficiency promotes heme-based energy metabolism dysfunction in skeletal muscle.*

**Cell Rep.** 2024 Mar 26;43(3):113854.

doi: 10.1016/j.celrep.2024.113854. PMID: 38412099.

IF: 7,5

Questa ricerca evidenzia l'importanza dell'eme nel metabolismo cellulare e nella funzionalità muscolare scheletrica. Attraverso un modello murino knockout specifico per il recettore FLVCR1a nel muscolo scheletrico, è stato dimostrato come FLVCR1a, sostenendo la sintesi dell'eme, contribuisce a definire il profilo energetico delle cellule muscolari, modulare la differenziazione delle cellule staminali satellite e promuovere la rigenerazione muscolare.

Piga D, Zanotti S, Ripolone M, Napoli L, Ciscato P, Gibertini S, Maggi L, Fortunato F, Rigamonti A, Ronchi D, Comi GP, Corti S, Sciacco M.

*Association between ZASP/LDB3 Pro26Ser and Inclusion Body Myopathy.*

**Int J Mol Sci.** 2024 Jun 14;25(12):6547.

doi: 10.3390/ijms25126547. PMID: 38928252.

IF: 4,9

La miosite a corpi inclusi (IBM) è una malattia lentamente progressiva appartenente alle miopatie infiammatorie idiopatiche ed è la miopatia acquisita più comune nell'età adulta. Si caratterizza clinicamente per debolezza muscolare asimmetrica, prossimale o distale, con un maggiore coinvolgimento dei flessori lunghi delle dita e degli estensori del ginocchio. A livello istologico, si riscontrano infiltrati cellulari, vacuoli con orletto fucsino-filo e inclusioni amiloidi. L'eziopatogenesi è complessa, poiché fattori ambientali e genetici contribuiscono alla degenerazione muscolare, distinguendosi forme sporadiche e ereditarie.

In questo studio, descriviamo un paziente italiano affetto da una forma ereditaria di IBM, con esordio intorno ai 45 anni. L'analisi di sequenziamento di nuova generazione ha identificato una mutazione eterozigote c.76C>T (p.Pro26Ser) nel dominio PDZ del gene LDB3/ZASP. Nella biopsia muscolare del probando, è stata osservata una maggiore espressione di ZASP, miotilina e desmina. Nella nostra famiglia, oltre a un'età di esordio più precoce, il quadro clinico risulta particolarmente singolare per la presenza, in un membro affetto, di oftalmoplegia completa nello sguardo verticale.

Questi risultati contribuiscono ad ampliare le conoscenze sul background clinico e genetico associato ai disordini miopatici a corpi inclusi.

Piga D, Rimoldi M, Magri F, Zanotti S, Napoli L, Ripolone M, Pagliarani S, Ciscato P, Velardo D, D'Amico A, Bertini E, Comi GP, Ronchi D, Corti S.

*Case report: A novel ACTA1 variant in a patient with nemaline rods and increased glycogen deposition.*

**Front Neurol.** 2024 Mar 4;15:1340693.

doi: 10.3389/fneur.2024.1340693. eCollection 2024. PMID: 38500810

IF: 2,7

Le miopatie congenite sono un gruppo di malattie ereditarie caratterizzate principalmente da ipotonia e debolezza muscolare fin dalla nascita. La loro gravità può variare notevolmente, da forme lievi a forme severe, che in alcuni casi possono essere fatali, mentre in altri possono migliorare nel tempo. L'analisi della biopsia muscolare è fondamentale per identificare caratteristiche morfologiche specifiche, anche se spesso si riscontrano più anomalie contemporaneamente, rendendo la diagnosi più complessa.

In questo studio viene descritto il caso di un neonato italiano con ipotonia grave, insufficienza respiratoria, difficoltà nella suzione e nella deglutizione, che ha richiesto ventilazione meccanica e nutrizione tramite gastrostomia. L'analisi della biopsia muscolare ha evidenziato vacuoli pieni di glicogeno, suggerendo una possibile miopatia metabolica, ma anche inclusioni fucsino-filo. Gli studi ultrastrutturali hanno confermato la presenza di glicogeno strutturato normalmente e di minirods, indirizzando la diagnosi verso una miopatia nemalinica.

Un'analisi genetica approfondita ha identificato una nuova variante eterozigote nel gene *ACTA1*, che codifica per l'alfa-actina del muscolo scheletrico. Questo caso contribuisce ad ampliare le conoscenze sulle alterazioni molecolari e patologiche delle actinopatie, sottolineando l'importanza degli esami

ultrastrutturali e dell'uso di pannelli genetici estesi per la diagnosi di pazienti con miopatie congenite complesse.

Massucco S, Fossa P, Fiorillo C, Faedo E, Gemelli C, Barresi R, Ripollone M, Patrone S, Gaudio A, Mandich P, Gotta F, Baratto S, Traverso M, Pisciotta L, Zaottini F, Camera M, Scarsi E, Grandis M. *Case report: A single novel calpain 3 gene variant associated with mild myopathy.*

**Front Genet.** 2024 Dec 5;15:1437859.

doi: 10.3389/fgene.2024.1437859. PMID: 39703226.

IF: 2,8

La distrofia muscolare dei cingoli di tipo 1, è causata da mutazioni nel gene calpain 3, ereditata con modalità recessiva, è la forma più comune di distrofia muscolare dei cingoli a livello globale. Recentemente, sono stati descritti casi di calpainopatia autosomica dominante. In questo lavoro abbiamo descritto il caso di un uomo di 54 anni affetto da un'iperCKemia persistente (>1000 U/l) associata a fatica muscolare e mialgia. L'esame clinico ha rilevato una debolezza prossimale lieve negli arti inferiori. Suo fratello mostrava un moderato aumento dei livelli di creatina chinasi sierica (fino a 2000 U/l) senza altri segni di miopia, mentre il padre aveva sviluppato una debolezza progressiva agli arti inferiori dopo i 50 anni. In entrambi i fratelli è stata identificata, in stato eterozigote, la variante c.1478G>A (p.Arg493Gln) del gene calpain 3. Studi di modellazione in silico suggeriscono che questa sostituzione potrebbe alterare il ripiegamento della proteina. Si tratta della prima descrizione della variante eterozigote p.Arg493Gln di calpain 3 come possibile causa di una forma lieve di calpainopatia.

Palleschi A, Mattioni G, LoMauro A, Privitera E, Musso V, Morlacchi L, Vergari M, Velardo D, Grasselli G.

*Diaphragm and Lung Transplantation.*

**Transpl Int.** 2024 Jun 24;37:12897.

doi: 10.3389/ti.2024.12897. PMID: 38979122. Review.

IF: 3,1

Il diaframma e il trapianto di polmone interagiscono reciprocamente. Prima del trapianto, fattori come la malattia respiratoria di base e i trattamenti cronici possono alterarne la funzione. Dopo il trapianto, il trauma chirurgico può causare modificazioni morfologiche e funzionali del muscolo. Inoltre, il diaframma influisce su aspetti come l'adattamento tra innesto e cavità toracica e la funzione respiratoria a lungo termine del paziente. Nonostante ciò, ad oggi non esistono criteri standard per valutare, definire e gestire la disfunzione diaframmatica nel contesto del trapianto di polmone. Questa lacuna limita una valutazione accurata dei fattori che influenzano il diaframma e del suo impatto reciproco sui risultati del trapianto. L'obiettivo di questa revisione narrativa è esplorare il ruolo complesso del diaframma nelle diverse fasi del trapianto di polmone e le modificazioni di questo muscolo dopo l'intervento chirurgico.

De Lorenzo A, Liberatore G, Doneddu PE, Manganelli F, Cocito D, Biani C, Fazio R, Mazzeo A, Schenone A, Di Stefano V, Cosentino G, Marfia GA, Benedetti L, Carpo M, Filosto M, Antonini G, Clerici AM, Luigetti M, Matà S, Rosso T, Lucchetta M, Siciliano G, Lauria Pinter G, Cavaletti G, Inghilleri M, Cantisani T, Notturmo F, Ricciardi D, Habetswallner F, Spina E, Peci E, Salvalaggio A, Falzone Y, Strano C, Gentile L, Vegezzi E, Mataluni G, Cotti Piccinelli S, Leonardi L, Romano A, Nobile-Orazio E; Italian CIDP Database Study Group.

*Impact of 2021 European Academy of Neurology/Peripheral Nerve Society diagnostic criteria on diagnosis and therapy of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy variants.*

**Eur J Neurol.** 2024 Apr;31(4):e16190.

doi: 10.1111/ene.16190. PMID: 38165011.

IF: 6.089

Le linee guida EAN/PNS 2021 forniscono criteri clinici specifici per diagnosticare le varianti della poliradiculoneuropatia demielinizzante infiammatoria cronica (CIDP). In uno studio su 369 pazienti, inclusi nel database italiano della CIDP, il 66% ha ricevuto una diagnosi di CIDP tipica o variante, con le varianti più comuni identificate come CIDP tipica (29%), distale (17%) e multifocale (7%). I pazienti con CIDP multifocale, distale e sensoriale avevano sintomi più lievi, con meno compromissione elettrofisiologica e livelli più bassi di proteine nel liquido cerebrospinale. I pazienti con CIDP motoria non rispondevano agli steroidi, mentre quelli con CIDP a predominanza motoria e sensoriale mostravano una risposta positiva.

Questi risultati evidenziano come i criteri EAN/PNS 2021 permettano una diagnosi più accurata e un trattamento più mirato per le diverse varianti di CIDP.

Gorgoglione D, Sabbatini D, Riguzzi P, Capece G, Pane M, Servidei S, Briganti M, Sancricca C, Bruschi F, Ardisson A, Masson R, Gallone A, Maggi L, Picillo E, Politano L, Petrosino A, Vianello S, Penzo M, Villa M, Sframeli M, Allegra C, Barp A, Di Bari A, Salmin F, Albamonte E, Colacicco G, Panicucci C, Traverso M, Palermo C, Lerario A, Velardo D, D'Angelo MG, Berardinelli A, Gardani A, Nicotra R, Parravicini S, Siciliano G, Ricci G, Torri F, Gadaleta G, Urbano G, Rolle E, Ricci F, D'Amico A, Catteruccia M, Pini A, Giannotta M, Battini R, Marinella G, Previtali SC, Zambon AA, Ferlini A, Fortunato F, Magri F, Mongini TE, Sansone VA, Bruno C, Messina S, Nigro V, Moroni I, Mercuri E, Bello L, Pegoraro E.

*Natural history of Becker muscular dystrophy: DMD gene mutations predict clinical severity.*

*Brain.* 2024 Nov 5: awae358.

doi: 10.1093/brain/awae358. PMID: 39499670.

IF: 11,9

La distrofia muscolare di Becker (BMD) è una malattia neuromuscolare legata al cromosoma X, causata da mutazioni nel gene DMD, che porta a una distrofina deficitaria e meno funzionale, principalmente nei muscoli scheletrici e cardiaci. Comprendere la storia naturale della BMD è cruciale per ottimizzare la cura dei pazienti e sviluppare trattamenti mirati. Questo studio retrospettivo su 943 pazienti con distrofia muscolare di Becker ha analizzato l'età alla diagnosi, la perdita della deambulazione, e i coinvolgimenti cardiaco e respiratorio. I pazienti con mutazioni specifiche nel gene DMD, come del45-49, avevano una età di perdita della deambulazione precoce, mentre mutazioni come del45-55 e del48 erano associate a una età di perdita della deambulazione più tardiva e a un minor rischio di sviluppare problemi cardiaci. Questi risultati aiutano a comprendere meglio la storia naturale della BMD e a personalizzare la prognosi e i trattamenti per i pazienti, soprattutto nell'era delle terapie emergenti.

Bortolani S, Savarese M, Vattermi G, Bonanno S, Falzone YM, Pugliese A, Primiano G, Sancricca C, Lopercolo D, Greco G, Gemelli C, Ravaglia S, Bencivenga RP, Velardo D, Magri F, Valentino ML, Cheli M, Torchia E, Lucchini M, Petrucci A, Ricci G, Garibaldi M, Astrea G, Rubegni A, Angelini CI, Ariatti A, Santorelli FM, Ruggieri A, Antonini G, Siciliano G, Filosto M, Mirabella M, Liguori R, Comi GP, Ruggiero L, Grandis M, Massa R, Malandrini A, Servidei S, Mongini TE, Rodolico C, Toscano A, Previtali SC, Tonin P, Diaz-Manera J, Monforte M, Ricci E, Maggi L, Tasca G.

*Clinical, Histopathologic, and Genetic Features of Patients with Myofibrillary and Distal Myopathies: Experience from the Italian Network.*

*Neurology.* 2024 Aug 27;103(4):e209697.

doi: 10.1212/WNL.0000000000209697. PMID: 39102614.

IF: 11,8

Il processo diagnostico per le miopatie miofibrillari (MFM) e le miopatie distali (DM) è particolarmente complesso a causa dell'elevato numero di geni causali, dell'esistenza di entità patologiche ancora non definite a livello molecolare e delle caratteristiche sovrapposte tra le due categorie. Questo studio ha avuto l'obiettivo di caratterizzare una vasta coorte di pazienti affetti da



MFM e DM e identificare gli aspetti diagnostici e prognostici più importanti di queste malattie. Sono stati analizzati 132 pazienti con miopatie miofibrillari (MFM) e 298 con miopatie distali (DM) in Italia. I principali geni coinvolti includevano DES, MYOT, DNAJB6 per MFM e GNE, MYH7 per DM. Le varianti in DES e MYH7 erano anche associate a complicazioni cardiache. L'insufficienza respiratoria è stata più comune nei pazienti con varianti TTN e DES, mentre il rischio di perdita della deambulazione era più elevato nei pazienti con mutazioni in GNE, DNAJB6 e PLIN4. L'analisi ha evidenziato una significativa sovrapposizione fenotipica tra MFM e DM e l'importanza di alcune varianti genetiche specifiche per la prognosi.

Bettio C, Banchelli F, Salsi V, Vicini R, Crisafulli O, Ruggiero L, Ricci G, Bucci E, Angelini C, Berardinelli A, Bonanno S, D'Angelo MG, Di Muzio A, Filosto M, Frezza E, Maggi L, Mongini T, Pegoraro E, Rodolico C, Scarlato M, Vattermi G, Velardo D, Tomelleri G, D'Amico R, D'Antona G, Tupler R.

*Physical activity practiced at a young age is associated with a less severe subsequent clinical presentation in facioscapulohumeral muscular dystrophy.*

*BMC Musculoskelet Disord.* 2024 Jan 5;25(1):35.

doi: 10.1186/s12891-023-07150-x. PMID: 38183077.

IF: 2.2

Nella distrofia muscolare facio-scapolo-omeroale (FSHD), non è noto se l'attività fisica (AF) praticata in giovane età sia associata alla presentazione clinica della malattia. Per valutare questo aspetto, è stato condotto uno studio retrospettivo su una coorte riguardante la pratica di sport, tra cui quelli con un impegno cardiovascolare medio-alto, in portatori clinicamente categorizzati di un allele ridotto D4Z4 (DRA). Sono stati reclutati soggetti di età compresa tra 18 e 60 anni. Le informazioni sull'attività fisica sono state ottenute tramite un sondaggio online riguardante la pratica sportiva in giovane età. I risultati hanno mostrato che i portatori con fenotipo classico e incompleto, che avevano praticato attività fisica in giovane età, avevano punteggi FSHD, che misurano l'incapacità muscolare funzionale, più bassi, suggerendo un miglioramento della funzione muscolare. Non è stato osservato alcun beneficio nei partecipanti con fenotipo incompleto. Questo evidenzia l'importanza dell'attività fisica come fattore prognostico nella gestione e stratificazione della malattia.

Nava S, Conte G, Triulzi FM, Comi GP, Magri F, Velardo D, Cinnante CM.

*Diffusion tensor imaging reveals subclinical alterations in muscles of patients with Becker muscular dystrophy.*

*Br J Radiol.* 2024 May 7;97(1157):947-953. doi: 10.1093/bjr/tqae070. PMID: 38574384.

IF: 3.629

La distrofia muscolare di Becker (BMD) è una malattia neuromuscolare che presenta un fenotipo parzialmente sovrapposto alla distrofia di Duchenne (DMD). I modelli fisiopatologici e anatomici non sono ancora completamente conosciuti, nonostante gli sforzi recenti nella ricerca di biomarcatori precoci. Lo scopo di questo studio era confrontare selettivamente i muscoli apparentemente normali dei pazienti con BMD con quelli di soggetti sani. Questo studio ha esaminato i muscoli sartorius e gracilis, apparentemente normali, in 40 pazienti con distrofia muscolare di Becker (BMD) utilizzando la risonanza magnetica a tensore di diffusione. Sono state identificate differenze significative nei parametri di diffusione tra i muscoli normali dei pazienti con BMD e i muscoli dei 20 controlli sani, con un effetto più marcato nel sartorius. I risultati suggeriscono che questo approccio possa rivelare alterazioni microstrutturali anche nei muscoli che sembrano normali, aprendo nuove prospettive per la comprensione della BMD.

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.** 2024 Apr;45(4):1691-1698.

doi: 10.1007/s10072-023-07169-x. PMID: 37968431.

IF: 2,7

Le distrofie muscolari da distrofina (distrofinopatie) sono un gruppo eterogeneo di disturbi neuromuscolari causati da mutazioni nel gene DMD. Isoforme differenti di distrofina sono espresse anche nella corteccia cerebrale e nelle cellule di Purkinje. Nonostante siano stati descritti disturbi cognitivi nei soggetti con distrofia muscolare di Duchenne, poco si sa riguardo a un profilo cognitivo completo nei pazienti con distrofia muscolare di Becker. È stata effettuata una valutazione neuropsicologica approfondita su 28 pazienti con distrofia muscolare di Becker, di età compresa tra 18 e 65 anni. Come soggetti di controllo, sono stati selezionati 20 pazienti con distrofia muscolare facio-scapolo-omerale, il cui quadro clinico era simile. I risultati hanno mostrato un'imperfetta prestazione nei test che misurano la memoria di lavoro, suggerendo un impairment selettivo di tale funzione cognitiva, che riduce il potenziale intellettuale dei pazienti senza causare disabilità intellettuale.

Alberti C, Moliterno N, Iacobelli V, Velardo D, Comi GP, Corti S, Parisi M, Abati E.

*A rare association of Guillain-Barré syndrome/Miller-Fisher syndrome overlap syndrome and Herpes Simplex Virus Type 1 infection: trigger or exacerbating factor?*

**Ther Adv Neurol Disord.** 2024 Dec 3;17:17562864241297086.

doi: 10.1177/17562864241297086. PMID: 39628849.

IF: 4,7

La sindrome di Guillain-Barré (GBS) e le sue varianti rappresentano un insieme di polinevriti acute mediate dal sistema immunitario, con presentazioni cliniche eterogenee e eziologie sottostanti diverse. Sebbene i trigger infettivi siano comuni in questi disturbi, l'associazione tra infezioni virali e condizioni neurologiche autoimmuni è ancora oggetto di attiva investigazione.

In questo caso, riportiamo un paziente di 80 anni che ha sviluppato una sindrome di sovrapposizione GBS/Miller-Fisher, con sintomi come disartria, disfonia, oftalmoplegia, areflessia e instabilità posturale a seguito di un'infezione delle vie respiratorie superiori. L'analisi del liquido cerebrospinale ha rivelato la presenza inattesa di DNA del virus dell'herpes simplex di tipo 1. Il trattamento con immunoglobuline endovenose e aciclovir ha portato a un progressivo miglioramento dei sintomi neurologici. Questo caso sottolinea il ruolo delle infezioni virali nella diagnosi differenziale e come potenziali trigger per disturbi neurologici autoimmuni, evidenziando l'efficacia di un trattamento mirato in casi clinici complessi.

Hidalgo-Gutierrez A, Shintaku J, Ramon J, Barriocanal-Casado E, Pesini A, Saneto RP, Garrabou G, Milisenda JC, Matas-Garcia A, Gort L, Ugarteburu O, Gu Y, Koganti L, Wang T, Tadesse S, Meneri M, Sciacco M, Wang S, Tanji K, Horwitz MS, Dorschner MO, Mansukhani M, Comi GP, Ronchi D, Marti R, Ribes A, Tort F, Hirano M.

*Guanylate Kinase 1 Deficiency: A Novel and Potentially Treatable Mitochondrial DNA Depletion/Deletions Disease.*

**Ann Neurol.** 2024 Dec;96(6):1209-1224.

doi: 10.1002/ana.27071. PMID: 39230499.

IF: 8,1

La sindrome da deplezione/delezione del DNA mitocondriale (MDDS) comprende una serie di malattie causate da difetti che impattano sul DNA mitocondriale (mtDNA). L'obiettivo di questo studio era esplorare l'etologia della MDDS in 4 pazienti che non presentavano varianti patogeniche nei noti geni associati a questa malattia. I pazienti presentavano ptosi, oftalmoparesi, debolezza

muscolare prossimale e varie problematiche epatiche e immunologiche. In tutti e 4 i pazienti è stata identificata una variante patogena biallelica di GUK1, che codifica per la guanilato chinasi. Le biopsie muscolari hanno mostrato deplezione del mtDNA e attività ridotta degli enzimi mitocondriali. La carenza di GUK1 compromette il bilancio dei nucleotidi mitocondriali e danneggia la replicazione del mtDNA. Trattamenti con desossi-guanosina e forodesina hanno migliorato la condizione, suggerendo che la carenza di GUK1 potrebbe essere trattabile farmacologicamente.

## **Elenco delle Pubblicazioni Scientifiche in Collaborazione con la SC Neurologia.**

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

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

**Front Neurol.** 2024 Jan 18;14:1281953. doi: 10.3389/fneur.2023.1281953. PMID: 38304327

Abati E, Rizzuti M, Anastasia A, Comi GP, Corti S, Rizzo F.

*Charcot-Marie-Tooth type 2A in vivo models: Current updates.*

**J Cell Mol Med.** 2024 May;28(9):e18293. doi: 10.1111/jcmm.18293. PMID: 38722298 Free PMC article. Review.

Rizzuti M, Melzi V, Brambilla L, Quetti L, Sali L, Ottoboni L, Meneri M, Ratti A, Verde F, Ticozzi N, Comi GP, Corti S, Abati E.

*Shaping the Neurovascular Unit Exploiting Human Brain Organoids.*

**Mol Neurobiol.** 2024 Sep;61(9):6642-6657. doi: 10.1007/s12035-024-03998-9. Epub 2024 Feb 9. PMID: 38334812 Free PMC article. Review.

Alberti C, Rizzo F, Anastasia A, Comi G, Corti S, Abati E.

*Charcot-Marie-tooth disease type 2A: An update on pathogenesis and therapeutic perspectives.*

**Neurobiol Dis.** 2024 Apr;193:106467. doi: 10.1016/j.nbd.2024.106467. Epub 2024 Mar 5. PMID: 38452947 Free article. Review.

Saez-Atienzar S, Souza CDS, Chia R, Beal SN, Lorenzini I, Huang R, Levy J, Burciu C, Ding J, Gibbs JR, Jones A, Dewan R, Pensato V, Peverelli S, Corrado L, van Vugt JJFA, van Rheenen W, Tunca C, Bayraktar E, Xia M; International ALS Genomics Consortium; ITALSGEN Consortium; SLAGEN Consortium; Project MinE ALS Sequencing Consortium; Iacoangeli A, Shatunov A, Tiloca C, Ticozzi N, Verde F, Mazzini L, Kenna K, Al Khleifat A, Opie-Martin S, Raggi F, Filosto M, Piccinelli SC, Padovani A, Gagliardi S, Inghilleri M, Ferlini A, Vasta R, Calvo A, Moglia C, Canosa A, Manera U, Grassano M, Mandrioli J, Mora G, Lunetta C, Tanel R, Trojsi F, Cardinali P, Gallone S, Brunetti M, Galimberti D, Serpente M, Fenoglio C, Scarpini E, Comi GP, Corti S, Del Bo R, Ceroni M, Pinter GL, Taroni F, Bella ED, Bersano E, Curtis CJ, Lee SH, Chung R, Patel H, Morrison KE, Cooper-Knock J, Shaw PJ, Breen G, Dobson RJB, Dalgard CL; American Genome Center; Scholz SW, Al-Chalabi A, van den Berg LH, McLaughlin R, Hardiman O, Cereda C, Sorarù G, D'Alfonso S, Chandran S, Pal S, Ratti A, Gellera C, Johnson K, Doucet-O'Hare T, Pasternack N, Wang T, Nath A, Siciliano G, Silani V, Başak AN, Veldink JH, Camu W, Glass J.

*Mechanism-free repurposing of drugs for C9orf72-related ALS/FTD using large-scale genomic data.*

**Cell Genom.** 2024 Nov 13;4(11):100679. doi: 10.1016/j.xgen.2024.100679. Epub 2024 Oct 21. PMID: 39437787 Free PMC article.

Cortese A, Beecroft SJ, Facchini S, Curro R, Cabrera-Serrano M, Stevanovski I, Chintalapathi SR, Gamaarachchi H, Weisburd B, Folland C, Monahan G, Scriba CK, Dofash L, Johari M, Grosz BR, Ellis M, Fearnley LG, Tankard R, Read J, Merve A, Dominik N, Vegezzi E, Schnekenberg RP, Fernandez-Eulate G, Masingue M, Giovannini D, Delatycki MB, Storey E, Gardner M, Amor DJ, Nicholson G, Vucic S, Henderson RD, Robertson T, Dyke J, Fabian V, Mastaglia F, Davis MR, Kennerson M; OPDM study group; Quinlivan R, Hammans S, Tucci A, Bahlo M, McLean CA, Laing

NG, Stojkovic T, Houlden H, Hanna MG, Deveson IW, Lockhart PJ, Lamont PJ, Fahey MC, Bugiardini E, Ravenscroft G.

*A CCG expansion in ABCD3 causes oculopharyngodistal myopathy in individuals of European ancestry.*

**Nat Commun.** 2024 Jul 27;15(1):6327. doi: 10.1038/s41467-024-49950-2.PMID: 39068203 Free PMC article.

Monfrini E, Baso G, Ronchi D, Meneri M, Gagliardi D, Quetti L, Verde F, Ticozzi N, Ratti A, Di Fonzo A, Comi GP, Ottoboni L, Corti S.

*Unleashing the potential of mRNA therapeutics for inherited neurological diseases.*

**Brain.** 2024 Sep 3;147(9):2934-2945. doi: 10.1093/brain/awae135.PMID: 38662782 Review.

Gagliardi D, Canzio E, Orsini P, Conti P, Sinisi V, Maggiore C, Santarsia MC, Lagioia G, Lupis G, Roppa I, Scianatico G, Mancini D, Corti S, Comi GP, Gentile M, Gagliardi D.

*Early spinal muscular atrophy treatment following newborn screening: A 20-month review of the first Italian regional experience.*

**Ann Clin Transl Neurol.** 2024 May;11(5):1090-1096. doi: 10.1002/acn3.52018. Epub 2024 Apr 10.PMID: 38600653 Free PMC article.

Govoni A, Ricci G, Bonanno S, Bello L, Magri F, Meneri M, Torri F, Caponnetto C, Passamano L, Grandis M, Trojsi F, Cerri F, Gadaleta G, Capece G, Caumo L, Tanel R, Saccani E, Vacchiano V, Sorarù G, D'Errico E, Tramacere I, Bortolani S, Rolle E, Gellera C, Zanin R, Silvestrini M, Politano L, Schenone A, Previtali SC, Berardinelli A, Turri M, Verriello L, Coccia M, Mantegazza R, Liguori R, Filosto M, Maioli MA, Simone IL, Mongini T, Corti S, Manca ML, Pegoraro E, Siciliano G, Comi GP, Maggi L.

*Six-minute walk test as outcome measure of fatigability in adults with spinal muscular atrophy treated with nusinersen.*

**Muscle Nerve.** 2024 Oct;70(4):816-823. doi: 10.1002/mus.28225. Epub 2024 Aug 2.PMID: 39096012

Abati E, Mauri E, Rimoldi M, Madini B, Patria F, Comi GP, Corti S.

*Sleep and sleep-related breathing disorders in patients with spinal muscular atrophy: a changing perspective from novel treatments?*

**Front Neurol.** 2024 Jun 4;15:1299205. doi: 10.3389/fneur.2024.1299205. eCollection 2024.PMID: 38895692 Free PMC article. Review.

Abati E, Gagliardi D, Manini A, Del Bo R, Ronchi D, Meneri M, Beretta F, Sarno A, Rizzo F, Monfrini E, Di Fonzo A, Pellicchia MT, Brusati A, Silani V, Comi GP, Ratti A, Verde F, Ticozzi N, Corti S.

*Investigating the prevalence of MFN2 mutations in amyotrophic lateral sclerosis: insights from an Italian cohort.*

**Brain Commun.** 2024 Sep 23;6(5):fcae312. doi: 10.1093/braincomms/fcae312. eCollection 2024.PMID: 39315308 Free PMC article.

Suazo KF, Mishra V, Maity S, Auger SA, Justyna K, Petre AM, Ottoboni L, Ongaro J, Corti SP, Lotti F, Przedborski S, Distefano MD.

*Improved synthesis and application of an alkyne-functionalized isoprenoid analogue to study the prenylomes of motor neurons, astrocytes and their stem cell progenitors.*

**Bioorg Chem.** 2024 Jun;147:107365. doi: 10.1016/j.bioorg.2024.107365. Epub 2024 Apr 16.PMID: 38636436 Free article.

Gagliardi D, Rizzuti M, Masrori P, Saccomanno D, Del Bo R, Sali L, Meneri M, Scarcella S, Milone I, Hersmus N, Ratti A, Ticozzi N, Silani V, Poesen K, Van Damme P, Comi GP, Corti S, Verde F. *Exploiting the role of CSF NfL, CHIT1, and miR-181b as potential diagnostic and prognostic biomarkers for ALS.*

**J Neurol.** 2024 Dec;271(12):7557-7571. doi: 10.1007/s00415-024-12699-1. Epub 2024 Sep 28. PMID: 39340541 Free PMC article.

Abati E, Alberti C, Tambè V, Esseridou A, Comi GP, Corti S, Meola G, Secchi F.

*Cardiac risk and myocardial fibrosis assessment with cardiac magnetic resonance in patients with myotonic dystrophy.*

**Front Neurol.** 2024 Nov 21;15:1493570. doi: 10.3389/fneur.2024.1493570. eCollection 2024. PMID: 39639989 Free PMC article.

Suazo KF, Mishra V, Maity S, Auger SA, Justyna K, Petre A, Ottoboni L, Ongaro J, Corti SP, Lotti F, Przedborski S, Distefano

*Improved synthesis and application of an alkyne-functionalized isoprenoid analogue to study the prenylomes of motor neurons, astrocytes and their stem cell progenitors.*

**MD.bioRxiv** [Preprint]. 2024 Mar 6:2024.03.03.583211. Update in: Bioorg Chem. 2024 Jun;147:107365. doi: 10.1016/j.bioorg.2024.107365. PMID: 38496415.

Lucchiari S, Fortunato F, Meola G, Mignarri A, Pagliarani S, Corti S, Comi GP, Ronchi D.

*Case report: Multiple approach analysis in a case of clinically assessed myotonia congenita.*

**Front Genet.** 2024 Dec 6;15:1486977. doi: 10.3389/fgene.2024.1486977. eCollection 2024. PMID: 39712484 Free PMC article.

Pagliari E, Taiana M, Manzini P, Sali L, Quetti L, Bertolasi L, Oldoni S, Melzi V, Comi G, Corti S, Nizzardo M, Rizzo F.

*Targeting STMN2 for neuroprotection and neuromuscular recovery in Spinal Muscular Atrophy: evidence from in vitro and in vivo SMA models.*

**Cell Mol Life Sci.** 2024 Dec 27;82(1):29. doi: 10.1007/s00018-024-05550-3. PMID: 39725771 Free PMC article.

Mercuri E, Vilchez JJ, Boespflug-Tanguy O, Zaidman CM, Mah JK, Goemans N, Müller-Felber W, Niks EH, Schara-Schmidt U, Bertini E, Comi GP, Mathews KD, Servais L, Vandenborne K, Johannsen J, Messina S, Spinty S, McAdam L, Selby K, Byrne B, Lavery CG, Carroll K, Zardi G, Cazzaniga S, Coceani N, Bettica P, McDonald CM; EPIDYS Study Group.

*Safety and efficacy of givinostat in boys with Duchenne muscular dystrophy (EPIDYS): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial.*

**Lancet Neurol.** 2024 Apr;23(4):393-403. doi: 10.1016/S1474-4422(24)00036-X. PMID: 38508835 Clinical Trial.

Donkervoort S, van de Locht M, Ronchi D, Reunert J, McLean CA, Zaki M, Orbach R, de Winter JM, Conijn S, Hoomoedt D, Neto OLA, Magri F, Viaene AN, Foley AR, Gorokhova S, Bolduc V, Hu Y, Acquaye N, Napoli L, Park JH, Immadisetty K, Miles LB, Essawi M, McModie S, Ferreira LF, Zanolini S, Neuhaus SB, Medne L, ElBagoury N, Johnson KR, Zhang Y, Laing NG, Davis MR, Bryson-Richardson RJ, Hwee DT, Hartman JJ, Malik FI, Keken-Huskey PM, Comi GP, Sharaf-Eldin W, Marquardt T, Ravenscroft G, Bönnemann CG, Ottenheijm CAC.

*Pathogenic TNNI1 variants disrupt sarcomere contractility resulting in hypo- and hypercontractile muscle disease.*

**Sci Transl Med.** 2024 Apr 3;16(741). doi: 10.1126/scitranslmed.adg2841. PMID: 38569017



## **LABORATORIO CELLULE STAMINALI**

### **RESPONSABILE:**

Professor Yvan Torrente

### **PERSONALE:**

Marzia Belicchi biologa

Mirella Meregalli biologa

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

Chiara Villa, bioingegnere, PostDoc,

Rebecca Oddone, biotecnologa

Monica Molinaro, biologa

Federica Santarelli, biologa

Debora Mostosi, biologa

Stefano Arpilli, studente della facoltà di biologia applicata alla ricerca biomedica

Shahrzad Goldar, studente della facoltà di biologia applicata alla ricerca biomedica

Sabrina Saccone, biotecnologa

Emma Leonetti, biotecnologa

Michela Libergoli, biotecnologa

Consuntivo dell'attività di ricerca svolta nel corso dell'anno 2024 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 2024 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.

I progetti di ricerca che durante quest'anno sono stati approfonditi e ulteriormente sviluppati nel Laboratorio del prof. Torrente sono inerenti ai due filoni sperimentali che da qualche anno impegnano il suo gruppo di lavoro: uno relativo allo studio del ruolo del sistema immunitario e, in particolare, del microbiota nelle distrofie muscolari. L'altro riguardante le nanotecnologie e una loro possibile applicazione in approcci terapeutici nel campo delle patologie neurodegenerative. Durante il 2024 il gruppo di ricerca ha seguito anche altre linee di ricerca nate da collaborazioni scientifiche nazionali ed internazionali.

### **Ruolo dell'immunità nelle distrofie muscolari**

Da diversi anni è noto che il microbiota intestinale svolge un ruolo fondamentale nel mantenimento dell'equilibrio dinamico delle cellule epiteliali e delle cellule del sistema immunitario, questa regolazione è cruciale per l'omeostasi generale degli organi. Disfunzioni in questo equilibrio possono portare a infiammazione e contribuire alla patogenesi di varie malattie.

Recentemente si è scoperta l'esistenza di un asse intestino-muscolo, ed è stato dimostrato che alterazioni nel microbiota intestinale possono perturbare i meccanismi regolatori nei tessuti muscolari e adiposi, innescando un meccanismo immuno-mediato di infiammazione. Nel contesto della distrofia muscolare di Duchenne (DMD), ancora oggi priva di una cura sebbene le terapie sperimentali abbiano fatto importanti progressi nel corso degli anni, le alterazioni della permeabilità intestinale modulano il microbiota intestinale che può portare ad una alterazione delle molecole regolatrici secrete dai muscoli scheletrici e dei tessuti adiposi (miochine e adipochine).

Metaboliti prodotti da batteri intestinali, o frammenti di batteri stessi, possono avere la capacità di migrare dall'intestino nel flusso sanguigno e infine infiltrarsi in tessuti muscolari distanti, esacerbando le patologie localizzate. Uno squilibrio prolungato nel microbiota intestinale può contribuire a creare una situazione di "stress" che ha effetti sul metabolismo delle cellule del sistema immunitario e, quindi, sul funzionamento del sistema stesso: uno stile di vita sano ed un'alimentazione corretta possono contribuire a sostenere il buon funzionamento del sistema immunitario.

È risaputo infatti che la dieta può modulare tipo e qualità del microbiota intestinale poiché fornisce i nutrienti necessari per la crescita di determinate specie microbiche. È di fondamentale importanza saper nutrire il microbiota in modo corretto con il giusto apporto di nutrienti e, se necessario, intervenire attraverso l'uso di nutraceutici capaci di interagire con esso soprattutto quando è in disequilibrio. Il Microbiota è in grado di biotrasformare nutrienti e nutraceutici modulando la loro funzione fisiologica.

Questi studi offrono nuove prospettive per interventi terapeutici, oltre ai metodi convenzionali, per contrastare in modo efficace la natura multiforme della DMD.

In una review, pubblicata quest'anno sulla rivista scientifica **"International Journal of Molecular Sciences"** il gruppo di ricerca diretto dal prof. Torrente ha descritto l'importanza del microbiota e come l'alterazione del microbiota intestinale sia stata rilevata in individui anziani, sarcopenici, e in pazienti affetti da cachessia. In particolare, nei pazienti con una patologia epatica è stato dimostrato essere presente un alterato rapporto dei batteri Firmicutes/Bacteroidetes e un aumento di batteri Gram negativi, correlati con una minor massa muscolare. Gli autori riportano inoltre come uno studio longitudinale abbia messo in relazione la fragilità legata all'età con la ricchezza del microbiota. In tal senso la riduzione di lattobacilli, dei bacteroidi e della prevotella, insieme ad un aumento di Enterobacteriaceae, sono associati nella popolazione anziana ai sintomi di fragilità. Gli atleti, presentano un microbiota intestinale distinto a causa del differente apporto di proteine assunte e delle



loro abitudini alimentari. Questi studi, quindi, rivelano il potenziale ruolo del microbiota come biomarcatore della salute umana.

Altri studi condotti su modelli animali dimostrano che la combinazione della riduzione della ricchezza del microbiota intestinale e l'up-regolazione di determinati ceppi batterici come Prevotellaceae, Rikenella e Alistipes, determina nei topi mdx, modello di distrofia muscolare di Duchenne, la disbiosi. Questa, associata a una barriera intestinale disfunzionale, porta al passaggio incontrollato di diverse proteine dal microbiota verso il muscolo scheletrico. Questa situazione contribuisce alla proliferazione di cellule infiammatorie (come i macrofagi M1) che, a loro volta, determinano alterazioni nella rigenerazione muscolare e nel metabolismo. La relazione sinergica tra questi eventi provoca lo sviluppo di atrofia del muscolo scheletrico, fibrosi e perdita di tessuto muscolare, fino a determinare un peggioramento del fenotipo patologico DMD. 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 e necessitano di ulteriori studi.

Pertanto, ripristinando la flora batterica intestinale potrebbe essere possibile trovare nuove forme di trattamento per diverse miopatie. Gli approcci per regolare il microbiota intestinale, sono differenti come, ad esempio, il trapianto di batteri fecali terapeutici e l'uso di prodotti pro-/pre-biotici. Pertanto, nella review gli autori sottolineano che il trapianto di microbiota fecale da soggetti sani o la modulazione del microbiota intestinale mediante prebiotici, probiotici, o batteri sintetici potrebbero essere considerati come potenziali trattamenti per migliorare la funzione muscolare.

Quest'anno, sulla stessa rivista scientifica internazionale, il gruppo del prof. Torrente ha pubblicato anche un'altra review in cui vengono evidenziati i numerosi progressi nella ricerca di nuovi biomarker e target terapeutici nella DMD.

I ricercatori hanno sottolineato ulteriormente il potenziale ruolo del microbiota intestinale nella patogenesi della DMD. Numerosi studi dimostrano che nella distrofia muscolare c'è una stretta interazione tra il sistema immunitario e i muscoli scheletrici oltre che con la rigenerazione muscolare. L'infiltrazione di cellule del sistema immunitario nei muscoli scheletrici è una delle caratteristiche principali della patofisiologia della malattia, tuttavia ci sono anche una serie di difetti secondari che coinvolgono il metabolismo e l'infiammazione i cui protagonisti non sono ancora chiari. Gli steroidi attualmente sono l'unico trattamento efficace per cercare di ritardare l'inizio della malattia e per controllarne i sintomi, ma il loro utilizzo nei pazienti è ancora limitato da gravi effetti collaterali.

Studi preliminari hanno messo in luce le caratteristiche distintive del profilo delle cellule T di un paziente DMD. L'analisi molecolare del loro trascrittoma e secretoma, infatti, permette di identificare una sottopopolazione di cellule come biomarcatori della malattia. Inoltre, aiuta a trovare nuovi percorsi per individuare potenziali obiettivi terapeutici. Nell'ultimo decennio sono emersi nuovi approcci e poichè è noto che lo sviluppo e l'equilibrio di entrambi i sistemi immunitari, innato e adattativo, sono strettamente legati al microbiota intestinale, la modulazione dei metaboliti derivati dal microbiota potrebbe esacerbare i danni muscolari attraverso l'attivazione del sistema immunitario. Contemporaneamente il sequenziamento del genoma ha avuto una rilevante utilità clinica per la diagnosi delle malattie rare, poichè ha portato a sviluppare metodologie innovative per interpretare le conseguenze funzionali delle variazioni genetiche osservate. L'identificazione di nuovi marcatori di malattia è fondamentale per incrementare le nostre conoscenze e permette di progettare applicazioni cliniche innovative, contribuendo a migliorare la qualità di vita dei soggetti affetti da malattie altamente invalidanti.

Nel 2024 il gruppo di ricerca diretto dal prof. Torrente ha pubblicato sulla rivista scientifica **“Frontiers in Immunology”** un editoriale in cui si sottolinea come la ricerca di terapie efficaci per le distrofie muscolari e, in particolare per la DMD, è sempre una questione aperta. L'impegno dei ricercatori è motivato dalla necessità di affrontare la complessa patofisiologia di queste patologie debilitanti, che compromettono significativamente la qualità e la durata della vita dei pazienti. La DMD, in particolare, rappresenta una sfida sostanziale a causa della sua natura progressiva e della grave compromissione della funzione muscolare scheletrica. L'eziologia genetica della malattia,

caratterizzata da mutazioni nel gene della distrofina, avvia una cascata di eventi, compresa anche l'infiammazione cronica.

Questo tema di ricerca fornisce strategie terapeutiche innovative aventi come target l'infiammazione nelle distrofie muscolari, compreso lo studio dell'immunità innata, il potenziale terapeutico dell'ormone della crescita, l'atrofia muscolare indotta dai meccanismi di base del muscolo infiammato, le capacità rigenerative dei miRNAs derivati da vescicole extracellulari.

In conclusione, gli studi presentati in questa review sottolineano la necessità di un approccio multidisciplinare volto ad affrontare le sfide che nascono dalle nuove conoscenze sulla DMD. La sinergia tra ricerca di base, studi clinici e sviluppo di nuovi farmaci è essenziale per l'identificazione di nuove strategie terapeutiche e per poter migliorare la qualità della vita dei pazienti.

### **Nanotecnologie e una loro possibile applicazione in approcci terapeutici**

Negli ultimi anni sono stati caratterizzati gli esosomi, piccole vescicole extracellulari che si sono affermate come particolarmente promettenti nel campo della medicina rigenerativa. Queste minuscole strutture legate alla membrana, di dimensioni tipicamente comprese tra 30 e 150 nanometri, svolgono un ruolo cruciale nella comunicazione intercellulare trasportando varie molecole, comprese proteine e acidi nucleici, tra le cellule. I benefici rigenerativi degli esosomi stanno diventando sempre più evidenti, aprendo la strada a nuove applicazioni terapeutiche. Nel campo della medicina di precisione e rigenerativa, nelle terapie mirate (ad es. terapie antitumorali e antimicrobiche), e nelle applicazioni nei settori cosmetico e nutraceutico è importante però poter disporre di sistemi di nano-delivery sempre più sicuri, efficienti e specifici. In tal senso nel 2024 il gruppo di ricerca del prof. Torrente ha pubblicato sulla rivista scientifica internazionale **“Nature Nanotechnology”** un lavoro in cui viene descritto un metodo innovativo per veicolare nei muscoli distrofici esosomi ingegnerizzati con proprietà antinfiammatorie. Questa rappresenta una nuova strategia per il trattamento della Distrofia Muscolare di Duchenne (DMD) basata sugli esosomi, microvescicole in grado di favorire la riparazione e rigenerazione dei tessuti.

La ricerca è stata svolta in collaborazione con il gruppo di ricerca del professor Angelo Monguzzi del Dipartimento di Scienza dei Materiali dell'Università di Milano-Bicocca ed il gruppo del professor Domenico Aquino del Dipartimento di Neuroradiologia dell'Istituto Carlo Besta di Milano. I ricercatori hanno sviluppato un metodo innovativo per veicolare esosomi ingegnerizzati con proprietà antinfiammatorie nei muscoli distrofici. Utilizzando, infatti, dei nanotubi ferromagnetici come vettore, gli esosomi, dopo un'iniezione sistemica, possono migrare specificamente nei muscoli danneggiati tramite l'applicazione di un campo magnetico esterno. In questo modo viene superata una delle principali problematiche legate all'utilizzo degli esosomi, ovvero come controllare la loro biodistribuzione e il loro targeting in vivo al fine di ottenere benefici terapeutici. Le analisi quantitative a livello muscolare hanno rivelato che i macrofagi dominano l'assorbimento degli esosomi iniettati, promuovendo la rigenerazione e migliorando la performance muscolare in un modello murino di Distrofia Muscolare di Duchenne. I risultati, ottenuti grazie alla formulazione di efficaci nanovettori funzionali mirati a ottimizzare la biodistribuzione delle microvescicole, costituiscono un significativo passo avanti per lo sviluppo di terapie innovative basate su microvescicole naturali e/o sintetiche per malattie muscolari. Il controllo preciso della biodistribuzione degli esosomi apre nuove possibilità per il trattamento non solo della Distrofia Muscolare di Duchenne, ma anche di altre patologie muscolari caratterizzate da infiammazione cronica e degenerazione tissutale.

### **Linee di ricerca nate da collaborazioni nazionali e internazionali**

La terapia cellulare per la distrofia muscolare ha avuto un successo limitato, principalmente a causa dello scarso attecchimento delle cellule donatrici, soprattutto nel muscolo fibrotico in uno stadio avanzato della malattia. Durante l'anno 2024 sono proseguite le collaborazioni con diversi gruppi di ricerca universitari e ospedalieri. In particolare la collaborazione con alcuni gruppi di ricerca diretti da studiosi che da anni si occupano di DMD come Giulio Cossu, professore di Medicina rigenerativa

all'Università di Manchester, Vincent Mouly dell'Istituto di miologia dell'Università Pierre et Marie Curie di Parigi e Irene Bozzoni professoressa del Dipartimento di Biologia e Biotecnologia Charles Darwin, dell'Università Sapienza di Roma ha permesso di pubblicare un lavoro sulla rivista scientifica internazionale **“Embo Molecular Medicine”** in cui viene utilizzata la tecnica dell'exon skipping per correggere le cellule distrofiche.

Questa tecnica mira ad eliminare il “danno molecolare” modificando direttamente l'RNA messaggero che codifica per la distrofina. La terapia basata sull'exon skipping non può essere considerata una cura vera e propria, piuttosto un modo per convertire la distrofia di Duchenne in quella di Becker, ovvero un modo per ridurre la gravità della distrofia. Quando una mutazione cambia il “reading frame”, cioè lo schema di lettura, del gene della distrofina non vi è più la produzione della proteina funzionale e ciò causa l'insorgenza della DMD. Il corretto schema di lettura del gene può essere ristabilito eliminando direttamente uno o più esoni corrispondenti alla regione in cui è presente la mutazione. Questa tecnica permette di produrre una distrofina più corta del normale ma, se il pezzo eliminato non corrisponde ad una regione cruciale, la proteina potrà ancora svolgere la sua funzione muscolare. In questo lavoro i ricercatori hanno osservato che la co-cultura di cellule miogeniche corrette geneticamente di soggetti affetti da DMD (ma non di cellule wild type) con le loro controparti non manipolate in un rapporto di 1:10 o 1:30 porta a una maggiore produzione di distrofina, per la diffusione di U7 snRNA ai nuclei residenti distrofici vicini. Questo potrebbe rappresentare un passo importante verso l'efficacia clinica della terapia cellulare.

Nonostante i numerosi approcci terapeutici che hanno come target la trascrizione della distrofina e dell'utrofina per prevenire la progressione della DMD, rimane ambigua ancora l'interpretazione della scorretta funzione cardiaca, spesso attribuita ad una eccessiva fibrosi.

L'attività del sistema immunitario cronico in cui sono coinvolti i linfociti T e i macrofagi, gioca un ruolo nella patogenesi della DMD, con un predominante fenotipo infiammatorio.

Nonostante i progressi nella comprensione dei meccanismi molecolari associati alla DMD, l'insufficienza miocardica rimane una delle principali cause di mortalità, e le strategie terapeutiche esistenti sono ancora limitate. Durante l'anno 2024 la collaborazione del prof. Torrente con il gruppo di lavoro diretto da Claudia Bearzi dell'Istituto di Tecnologie Biomediche CNR di Milano e il prof. Roberto Rizzi del Dipartimento di Scienze Medico-Chirurgiche dell'Università la Sapienza di Roma, ha permesso di pubblicare sulla rivista scientifica **“Journal of Pathology”** un lavoro in cui si ipotizza che nel tessuto cardiaco distrofico esista una disregolazione della comunicazione biologica tra macrofagi e giunzioni neurocardiache. Nel topo mdx, modello animale di DMD, questo fenomeno è influenzato dal sovra-rilascio di Condroitin Solfato Proteoglicano-4 (CSPG4), un inibitore chiave dello sprouting del nervo e un modulatore della funzione neurale, dai macrofagi che si infiltrano nel tessuto cardiaco ed è associato a una cardiomiopatia dilatativa, caratteristica della DMD.

I ricercatori, in precedenti lavori, avevano dimostrato che il farmaco Givinostat, inibitore dell'istone deacetilasi (histone deacetylase, HDAC), che modula l'attività deregolata delle HDAC nel muscolo distrofico, è in grado di ridurre l'infiammazione e la fibrosi in un modello murino di infarto del miocardio, determinando un miglioramento delle prestazioni cardiache.

L'effetto del Givinostat su topi distrofici con cardiopatia dilatativa è ad oggi ancora sconosciuto. In questo studio i ricercatori mostrano che il meccanismo d'azione di Givinostat ha il potenziale di inibire l'iperattività patologica delle HDAC nel tentativo di interferire nella cascata di eventi che portano al danno muscolare, contrastando così la fisiopatologia della malattia, rallentando il deterioramento muscolare, ripristinando un microambiente fisiologico della giunzione neuro-cardiaca e la funzione cardiaca nei topi mdx oltre a determinare una riduzione della fibrosi cardiaca, infiammazione mediata da macrofagi e tessuto contenente CSPG4. I risultati di questo studio hanno portato il team di ricercatori a ipotizzare che Givinostat potrebbe esercitare un'azione stabilizzatrice a lungo termine sulla funzione cardiaca e in parallelo determinare nel tempo una riduzione dell'infiammazione cardiaca e della fibrosi.

Pertanto, questo studio fornisce una nuova visione della patofisiologia della DMD nel cuore, identificando potenziali nuovi bersagli biologici.

Anche un'altra collaborazione con il gruppo di ricerca diretto dalla professoressa Tolosano dell'Università di Torino ha permesso al gruppo del Prof Torrente di pubblicare nell'anno 2024 sulla rivista scientifica **"Cell Reports"**, un lavoro in cui i ricercatori studiano i meccanismi di controllo delle vie metaboliche fondamentali per la corretta funzione muscolare e per la rigenerazione al fine di contrastare la progressione della malattia del muscolo scheletrico.

L'eme è parte essenziale di molte proteine cruciali per la vita, quali l'emoglobina per il trasporto dell'ossigeno, la mioglobina, i citocromi per la respirazione cellulare e per il catabolismo di molte sostanze inclusi i farmaci. Tuttavia, un eccesso di eme risulta tossico per il nostro organismo in quanto l'eme in eccesso promuove il danno ossidativo. Pertanto, il metabolismo dell'eme è finemente controllato sia a livello cellulare che sistemico.

Il muscolo scheletrico è un importante compartimento del corpo che produce heme, ma le conseguenze di un'alterata omeostasi dell'heme in questo tessuto sono state poco studiate. In questo lavoro i ricercatori hanno indagato un trasportatore di eme, chiamato FLVCR1 (*Feline Leukemia Virus subgroup C Receptor 1*) che controlla i livelli cellulari di eme prodotto dalla biosintesi. La funzione di FLVCR1 è fondamentale per cellule eritroidi e del sistema immunitario, cellule endoteliali, epatociti, cellule della mucosa intestinale, e cellule del sistema nervoso. E' noto che FLVCR1, controllando i livelli citosolici di eme, partecipi al controllo del metabolismo cellulare fondamentale per regolare la proliferazione e la sopravvivenza cellulare.

La biosintesi di heme, mediata da ALAS1, influenza il metabolismo ossidativo dei mitocondri e la modulazione della funzione di FLVCR1a potrebbe agire sul metabolismo energetico del muscolo scheletrico. In tal senso i ricercatori hanno dimostrato, utilizzando un modello animale privo di FLVCR1a, che FLVCR1a è determinante per il metabolismo del muscolo scheletrico e che modula il differenziamento delle cellule satellite e la rigenerazione muscolare. In tal modo suggeriscono potenziali nuove strade per modulare la funzione del muscolo scheletrico e il destino delle cellule satellite targhetando il pathway metabolico controllato da o interconnesso con la biosintesi di heme mediata da ALAS1.

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 2024, la sinergia di diverse competenze cliniche e biologiche ha permesso la pubblicazione, sulla rivista internazionale **"Haematologica"**, di due lavori. Nel primo lavoro gli autori, per chiarire la rilevanza biologica e molecolare della sovra-regolazione di NEAT1 nella malattia da mieloma multiplo (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 di riparazione del DNA (DDR) attraverso almeno due meccanismi diversi. Da un lato NEAT1 regola positivamente la stabilizzazione post-traduzionale delle proteine essenziali delle paraspecole (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.

Nel secondo lavoro gli autori hanno utilizzato una strategia che combina approcci trascrittomici e computazionali per fare un high-throughput screening di farmaci per identificare piccoli composti in grado di agire in modo sinergico con l'inibizione di NEAT1 riducendo la crescita e la vitalità delle cellule MM. La combinazione del silenziamento di NEAT1 e gli inibitori Aurora kinase A (AURKA) nelle cellule MM compromette profondamente l'organizzazione dei microtubuli e la formazione del fuso mitotico, determinando la morte cellulare. Le analisi di uno dei più grandi datasets pubblici di mieloma, mostra che in pazienti con mieloma multiplo l'espressione di AURKA è fortemente associata

alla riduzione della progressione della malattia e in generale alla probabilità di sopravvivenza. Inoltre, pazienti con elevati livelli di espressione di NEAT1 e AURKA hanno un esito clinico peggiore. Infine, analisi di RNA-sequencing di cellule di MM in cui NEAT1 è stato silenziato hanno identificato TPX2, un regolatore allosterico di AURKA, come un nuovo target di NEAT1 nelle cellule MM e come un mediatore della interazione tra NEAT1 e AURKA, fornendo quindi una possibile spiegazione dell'attività sinergica osservata durante la loro inibizione combinata.

Un altro lavoro pubblicato nell'anno 2024 sulla rivista scientifica **“Gut Microbes”** è nato dalla collaborazione del prof. Torrente con diversi gruppi di ricerca interdisciplinari come il gruppo diretto dal prof. Caprioli dell'unità di Gastrologia e Endoscopia della Fondazione IRCCS Ca' Granda Policlinico di Milano e il gruppo guidato dalla prof.ssa Facciotti dell'Istituto Europeo di Oncologia. L'interazione tra il microbiota intestinale e le cellule T Natural Killer (iNKT) svolge un ruolo fondamentale nel cancro del colon-retto (CRC), che costituisce il terzo cancro più diffuso in tutto il mondo e la seconda causa di morte per cancro.

In questo lavoro gli autori hanno studiato le cellule iNKT che fanno parte del sistema immunitario e sono un tipo particolare di linfociti T con “licenza di uccidere” le cellule tumorali. Si tratta di cellule poco numerose e sul cui funzionamento si conosce ancora poco, soprattutto in ambito umano. E' noto che anche nell'organismo umano le cellule iNKT sono in grado di sopprimere in modo efficace e specifico le cellule del tumore del colon-retto. Il meccanismo usato dalle iNKT è basato sull'azione di due molecole: la perforina, permette di praticare un buco nella membrana della cellula tumorale; attraverso questo buco, nella cellula tumorale penetra la granzima, la seconda molecola, che con la sua azione citotossica uccide la cellula stessa.

Diversi membri del microbiota orale sono associati allo sviluppo e alla progressione dei tumori, sia all'interno della cavità orale che in sedi anatomiche distanti. In particolare, il trasporto di batteri come *F. nucleatum* e *P. gingivalis* è associato allo sviluppo di tumori. I meccanismi della carcinogenesi mediata da batteri includono la generazione di condizioni pro-infiammatorie, la soppressione immunitaria e la soppressione dell'apoptosi.

Il batterio orale *P. gingivalis* (Pg) mucosa-associato induce un fenotipo pro-tumorale in cellule iNKT, successivamente influenza la composizione delle cellule mononucleate-fagocitarie nel microambiente tumorale. *P. gingivalis*, infatti, compromette la citotossicità delle cellule iNKT interferendo con il loro meccanismo litico attraverso l'up-regolazione della proteina 1 simile alla chitinasi-3 (CHI3L1) e promuovendo il reclutamento di neutrofili all'interno dell'ambiente tumorale. I risultati ottenuti dimostrano come Pg accelera la progressione del CRC inducendo l'up-regolazione della proteina CHI3L1 nelle cellule iNKT compromettendo quindi la loro funzione citotossica e di conseguenza promuovendo la progressione del tumore.

Durante il 2024 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). Anche nel 2024 il prof. Torrente, ha svolto l'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 2024**

### **ELENCO PUBBLICAZIONI SU RIVISTE INTERNAZIONALI RECENSITE**

Noemi Puccio, Gloria Manzotti, Elisabetta Mereu, Federica Torricelli, Domenica Ronchetti, Michela Cumerlato, Ilaria Craparotta, Laura Di Rito, Marco Bolis, Valentina Traini, Veronica Manicardi, Valentina Fragliasso, Yvan Torrente, Nicola Amodio, Niccolò Bolli, Elisa Taiana, Alessia Ciarrocchi<sup>1</sup>, Roberto Piva, Antonino Neri

*Combinatorial strategies targeting NEAT1 and AURKA as new potential therapeutic options for multiple myeloma.*

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** Dec 1;109(12):4040-4055. **I.F.:** 8.2

Vanessa K. Favasuli, Domenica Ronchetti, Ilaria Silvestris, Noemi Puccio, Giuseppina Fabbiano, Valentina Traini, Katia Todoerti,<sup>6</sup> 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 Taiani

*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.:** 8.2

Monica Molinaro, Yvan Torrente, Chiara Villa and Andrea Farini

*Advancing Biomarker Discovery and Therapeutic Targets in Duchenne Muscular Dystrophy: A Comprehensive Review*

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

**INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES** 25, 631 **I.F.:** 4.9

Francesco Galli, Laricia Bragg, Maira Rossi, Daisy Proietti, Laura Perani, Marco Bacigaluppi, Rossana Tonlorenzi, Tendai Sibanda, Miriam Caffarini, Avraneel Talapatra, Sabrina Santoleri, Mirella Meregalli, Beatriz Bano-Otalora, Anne Bigot, Irene Bozzoni, Chiara Bonini, Vincent Mouly, Yvan Torrente & Giulio Cossu

*Cell-mediated exon skipping normalizes dystrophin expression and muscle function in a new mouse model of Duchenne Muscular Dystrophy*

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

**EMBO MOLECULAR MEDICINE** (2024) 16:927–944. **I.F.:** 9

Chiara Villa, Andrea Farini and Yvan Torrente

*Editorial: Inflammation in muscular dystrophies: mediators, mechanisms, and therapeutics*

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 IMMUNOLOGY** 15:1470266. **I.F.:** 5.7

Debora Mostosi, Monica Molinaro, Sabrina Saccone, Yvan Torrente, Chiara Villa and Andrea Farini Stem Cell Laboratory, Department of Pathophysiology and Transplantation, University of Milan, Unit of Neurology, Fondazione IRCCS Cà Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Centro Dino Ferrari, Milan, Italy

*Exploring the Gut Microbiota–Muscle Axis in Duchenne Muscular Dystrophy*

**INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES** 25, 5589 I.F.: 4.9

Chiara Villa, Valeria Secchi, Mirco Macchi, Luana Tripodi, Elena Trombetta, Desiree Zambroni, Francesco Padelli, Michele Mauri, Monica Molinaro, Rebecca Oddone, Andrea Farini, Antonella De Palma, Laura Varela Pinzon, Federica Santarelli, Roberto Simonutti, PierLuigi Mauri, Laura Porretti, Marcello Campione, Domenico Aquino, Angelo Monguzzi & Yvan Torrente

*Magnetic-field-driven targeting of exosomes modulates immune and metabolic changes 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

**NATURE NANOTECHNOLOGY** | Volume 19 | October 2024 | 1532–1543 I.F.: 38.1

Miriam Mistretta, Veronica Fiorito, Anna Lucia Allocco, Giorgia Ammirata, Myriam Y. Hsu, Sabrina Digiovanni, Marzia Belicchi, Laura Napoli, Michela Ripolone, Elena Trombetta, PierLuigi Mauri, Andrea Farini, Mirella Meregalli, Chiara Villa, Paolo Ettore Porporato, Barbara Miniscalco, Simonetta Geninatti Crich, Chiara Riganti, Yvan Torrente and Emanuela Tolosano

*Flvcr1a deficiency promotes heme-based energy metabolism dysfunction in skeletal 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

**CELL REPORTS** 43, 113854, March 26, 2024 I.F.: 7.5

Marika Milan, Fabio Maiullari, Maila Chirivì, Maria Grazia Ceraolo, Rebecca Zigiutto, Andrea Soluri, Silvia Maiullari, Elisa Landon, Dario Di Silvestre, Francesca Brambilla, Pierluigi Mauri, Veronica De Paoli, Nicole Fratini, Maria Cristina Crosti, Chiara Cordiglieri, Chiara Parisi, Antonella Calogero, Dror Seliktar, Yvan Torrente, Chiara Lanzuolo, Gianpietro Dotti, Mirco Toccafondi, Mauro Bombaci, Elena De Falco Claudia Bearzi and Roberto Rizzi

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

*Macrophages producing chondroitin sulfate proteoglycan-4 induce neuro-cardiac junction impairment in Duchenne muscular dystrophy*

**JOURNAL OF PATHOLOGY** 2025; 265: 1–13 I.F.: 5.6

Angélica Díaz-Basabea, Georgia Lattanzia, Federica Perillo, Chiara Amorosoc, Alberto Baerid, Andrea Farinie, Yvan Torrente,f, Giuseppe Penna, Maria Rescigno, Michele Ghidini, Elisa Cassinotti, Ludovica Baldari, Luigi Bonj, Maurizio Vecchic, Flavio Caprioli, Federica Facciotti, and Francesco Strati 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

*Porphyromonas gingivalis fuels colorectal cancer through CHI3L1-mediated Inkt cell-driven immune evasion*

**GUT MICROBES** 2024, VOL. 16, NO. 1, 2388801 I.F.: 12.2

## **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-TELETHON; 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-sarcoglycanopatie, 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

“Unsolved challenges in dystroglycanopathies: the search for novel molecular predictors for  $\alpha$ DG glycosylation diagnosis and management”. (MUR\_PRIN 2022)



## 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 Traslationale 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 studi di Milano
- **Silvio Bicciato**, bioinformatics unit, Faculty of Biosciences and Biotechnologies, University of Modena and Reggio Emilia

- **Enrico Tagliafico**, clinical Biochemistry, University of Modena and Reggio Emilia
- **Sergio Abrignani**, direttore del National Institute of Molecular Genetics (INGM), Milan, Italy
- **Silvano Bosari**, direttore UOC Anatomia Patologica, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico di Milano, Dipartimento di Fisiopatologia Medico-Chirurgica e dei Trapianti, Università degli Studi di Milano
- **Carlo Agostoni**, Direttore della Clinica Pediatrica II dell'Università degli Studi, IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico di Milano
- **Lorenza Lazzari** 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, Milano, Italy
- **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**, Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università di Genova, Italy, IRCCS Azienda Ospedaliera Universitaria San Martino-IST, Genova, Italy
- **Francesco Meinardi**- Fisica della Materia, Università di Milano Bicocca, Italy
- **Angelo Monguzzi**- Fisica della Materia Condensata presso il Dipartimento di Scienza dei Materiali, Università di Milano Bicocca
- **Jose F Rodriguez-Matas**-Laboratorio di Biomeccanica Politecnico di Milano, Italy
- **Giorgio Roberto Merlo**, Dipartimento di Biotecnologie Molecolari e Scienze per la salute-Università di Torino, Italy
- **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, Italy
- **Prof. Stefano Biressi** – Centro di Biologia Integrata – CIBIO, Università degli Studi di Trento, Italy
- **Prof. Lorenzo Bello** - Neurochirurgia Oncologica, Humanitas, Milano, Italy
- **Prof. Alberto Priori** - U.O.C. Neurologia, Ospedale San Paolo, Milano, Italy
- **Prof. Pierluigi Mauri** – Istituto di Tecnologie Biomediche, Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR-ITB), Milano, Italy
- **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, Italy
- **Prof. Umberto Galderisi** – Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università degli Studi della Campania "Luigi Vanvitelli", Italy
- **D.ssa Barbara Cassani** – Istituto di Genetica e Biomedicina (IRGB), National Research Council (CNR) Milano, Italy
- **Prof. Sabrina Sacconi** – Nice University Hospital, Nice, France
- **Mattia Quattrocelli** – 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, Italy
- **Federica Facciotti**- Istituto Europeo di Oncologia (IEO)-Università di Milano-Bicocca, Italy
- **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, Italy
- **Emanuela Tolosano**- Dipartimento di Biotecnologie Molecolari e Scienze per la Salute - Università di Torino, Italy
- **Anna Urciolo**- Dipartimento di Medicina Molecolare-università di Padova, Italy



SSD NEUROLOGIA-MALATTIE NEURODEGENERATIVE  
CENTRO PER LO STUDIO, LA DIAGNOSI E LA TERAPIA DEI DISTURBI COGNITIVI E  
DELLA MEMORIA "CENTRO PER I DISTURBI COGNITIVI E LE DEMENZE - CDCD"  
CENTRO PER LO STUDIO, LA DIAGNOSI E LA TERAPIA DELLA SCLEROSI MULTIPLA

**DIRETTORE:**

Dott. Andrea Arighi

**PROFESSORE FUORI RUOLO, CONTRATTO TITOLO GRATUITO**

Prof. Elio Scarpini

**RTDA**

Prof.ssa Daniela Galimberti

**MEDICI**

Dott.ssa Milena De Riz  
Dott.ssa Anna Pietroboni  
Dott.ssa Tiziana Carandini  
Dott.ssa Laura Ghezzi  
Dott.ssa Manuela Pintus  
Dott. Samuel Padelli

**MEDICI SPECIALIZZANDI**

Dott. Luca Sacchi  
Dott.ssa Arianna Bortoli  
Dott. Francesco Certo

**BIOLOGI**

Dott.ssa Chiara Fenoglio  
Dott.ssa Maria Serpente  
Dott.ssa Marina Arcaro  
Dott.ssa Maria Teresa Golia  
Dott.ssa Francesca Buccellato  
Dott.ssa Chiara Bianchessi  
Dott.ssa Giulia Giudici

**TECNICO LAUREATO**

Dott.ssa Marianna D'Anca

**BIOLOGI**

Dott. Roberto Vimercati  
Dr.ssa Emanuela Rotondo  
Dott.ssa Vittoria Borracci  
Dott.ssa Marta Frascotti  
Dott.ssa Graziana Florio

Dott.ssa Vittoria Brighenti

**BIOINGEGNERE – DOTTORANDO**

Dott. Giorgio Bocca

**SEGRETARI**

Sig.ra Daniela Da Lisca

Sig. Marco Milianti

## 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 2024 sono giunti all'ambulatorio per le Malattie Demielinizzanti 170 nuovi pazienti.

Il numero totale di visite nel corso del 2024 è stato di 779 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 637 prestazioni 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), Ocrevus (Ocrelizumab), Kesimpta (Ofatumumab), Ponvory (Ponesimod), Zeposia (Ozanimod), Mayzent (Siponimod), Mavenclad (Cladribina), Briumvi (Ublituximab). In dettaglio, sono al momento registrati in File F per il trattamento circa 400 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 320 nuovi pazienti. Complessivamente sono state eseguite circa 1100 visite, in ambulatori attivi dal lunedì al venerdì, sia la mattina che il pomeriggio, anche in telemedicina.

Sono stati effettuati 90 prestazioni 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, e dal 2015 è stato riconosciuto come Centro per i Disturbi Cognitivi e le Demenze - CDCD. 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. Caratteristica del centro è l'importante multidisciplinarietà: regolarmente vengono svolte valutazioni multidisciplinari che vedono il Neurologo lavorare al fianco di Psichiatri, Geriatri, Neurochirurghi, per gestire i casi più complessi di decadimento cognitivo.

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: 140
- dosaggio Amiloide, Tau totale e fosforilata nel liquor per diagnosi Alzheimer: 191
- progranulina plasmatica: 70
- ricerca di espansione esanucleotidica di *C9ORF72* mediante analisi di frammenti: 120
- analisi NGS esoma clinico: 80

## 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

## 3. ATTIVITÀ DI RICERCA DI BASE

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

1) circa 8500 campioni di DNA. Le patologie più rappresentate sono:

- 800 pazienti con diagnosi di Malattia di Alzheimer
- 720 con altri tipi di demenza (Degenerazione Lobare Frontotemporale, demenza a corpi di Lewy, demenza vascolare, paralisi sopranucleare progressiva, degenerazione corticobasale) 1000 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

4) circa 30 campioni di cellule mononucleate di sangue periferico (PBMCs) di pazienti affetti da SM e altre malattie demielinizzanti del SNC

Nel corso del 2024 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



Il progetto conclusosi questo anno, si colloca nell'ambito della ricerca finalizzata finanziata dal Ministero della Salute. La proposta progettuale ha avuto come obiettivo di studiare il ruolo degli esosomi, piccole vescicole extracellulari, come potenziali biomarcatori di fragilità e demenza, con particolare attenzione agli RNA non codificanti (ncRNA) e ai trascritti infiammatori contenuti negli esosomi di origine neuronale e microgliale isolati da plasma di pazienti con malattia di Alzheimer (AD), Mild Cognitive Impairment (MCI) e controlli.

I risultati hanno evidenziato alterazioni significative nei livelli di specifici miRNA, con un aumento del miR-451a e miR-223-3p negli esosomi di derivazione neuronale (L1CAM-positivi) nei pazienti affetti da AD, e del miR-30a-5p gli esosomi microgliali (TMEM119-positivi) nei pazienti fragili con MCI. Inoltre, le vescicole di derivazione microgliale hanno mostrato una maggiore tossicità rispetto a quelle neuronali, suggerendo un contributo al danno neuronale e ai deficit cognitivi. L'analisi funzionale del miR-30a-5p ha rivelato effetti sulla maturazione neuronale, sull'omeostasi del calcio e sulla stabilità sinaptica.

L'analisi dei marcatori infiammatori nelle vescicole di derivazione microgliale ha mostrato una significativa riduzione di citochine pro- e antinfiammatorie (ad esempio, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e INF- $\gamma$ ) nei pazienti AD rispetto ai controlli. Al contrario, gli stessi marcatori sono risultati aumentati nel plasma libero dei pazienti, evidenziando una possibile alterazione nel traffico delle citochine tra il compartimento esosomale e il plasma.

Il progetto ha portato al deposito di un brevetto per l'utilizzo del miR-190b-5p, identificato negli esosomi di derivazione neuronale, come biomarcatore diagnostico per l'AD. I risultati suggeriscono che gli esosomi ed il loro contenuto molecolare possano essere utilizzati come strumenti diagnostici innovativi per le patologie neurodegenerative.

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

Questo studio conclusosi questo anno 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- $\gamma$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , 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 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , PlGF, SAA, TARC, Tie-2, TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ , 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 concluso nel 2024 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 ( $>78\%$ ). I dati sono stati poi validati in una coorte più ampia di portatori di mutazione sintomatici e asintomatici.

#### 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 molecolare e dei plessi corioidei mediante RM con sequenze avanzate 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 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. 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. Nell'ultimo anno si è conclusa inoltre la fase di validazione del dato su una casistica più ampia che include anche i soggetti affetti da disturbo bipolare.

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.

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)

Ricerca di biomarcatori di progressione silente in pazienti affetti da Sclerosi Multipla e sottoposti a terapie immunomodulanti ad alta efficacia.

Saranno reclutati pazienti affetti da SM in terapia con Natalizumab o Ocrelizumab da almeno 3 anni per i quali sono disponibili dati di neuroimaging e clinici (40 per gruppo) e un campione di liquor, raccolto alla diagnosi, prima dell'inizio della terapia. Eseguiamo un'analisi multiplex, volta al dosaggio di un pannello di citochine infiammatorie su campioni di liquor per cercare eventuali marcatori che possano predire l'accumulo di disabilità nonostante le terapie ad alta efficacia già all'esordio di malattia.

Studio quantitativo e qualitativo delle vescicole extracellulari derivanti dalla microglia in pazienti affetti da Sclerosi Multipla.

Vescicole TMEM119+ saranno isolate e quantificate su campioni di siero di pazienti affetti da SM, ottenuti alla diagnosi. La quantità di vescicolare sarà correlata con marcatori radiologici, biologici e clinici di aggressività e attività di malattia. Le vescicole TMEM119+ saranno ulteriormente caratterizzate tramite l'analisi dell'espressione di molecole di superficie specifiche (tetraspaline) e mieloidi (CD11b e TMEM119).

Natalizumab Evaluation of Safety and Efficacy in the transition from intravenous and subcutaneous administration: a retrospective study (NEST-SC study).

Valutare la sovrapponibilità della risposta clinica e neuroradiologica alla terapia con Natalizumab SC dopo almeno due anni di terapia con Natalizumab ev in una ampia popolazione afferente a centri SM italiani. In particolare, l'obiettivo primario sarà la valutazione di eventuali variazioni dell'attività infiammatoria di malattia (ricadute cliniche e/o nuove lesioni in T2 e/o lesioni Gd+) nel periodo in NTZ-EV vs il periodo in NTZ-SC. Obiettivi secondari comprenderanno la valutazione della presenza di Eventi Avversi in NTZ-EV e NTZ-SC, del tasso di variazione irreversibile EDSS in NTZ-EV e NTZ-SC, del tasso di positivizzazione JCV in NTZ-EV e NTZ-SC e del tasso di discontinuazione di NT-SC, e descrizione delle motivazioni.

Registro multicentrico su gravidanze esposte ad anticorpi monoclonali anti-CD20 in pazienti con Sclerosi Multipla (CD20-Pregnancy).

Studio osservazionale per valutare andamento delle gravidanze esposte a farmaci anti-CD20 in pazienti affette da SM.

Studio IMMIDEM, Dementia in immigrants and ethnic minorities: clinical-epidemiological aspects and public health perspectives.

Primo progetto dedicato a caratterizzare il fenomeno dei disturbi cognitivi nella popolazione migrante in Italia, coordinato dall'Istituto Superiore di Sanità attraverso l'Immidem Study Group, è stato avviato con il finanziamento del Ministero della Salute nell'ambito della Ricerca Finalizzata 2016 (GR-2016-012364975) e prosegue nell'ambito della Ricerca Finalizzata 2021 (GR-2021-12372081). Oltre a descrivere e quantificare il fenomeno dei disturbi cognitivi nella popolazione migrante attraverso la sua caratterizzazione clinico-epidemiologica, Immidem mira anche a creare strumenti per lo sviluppo di un contesto capace di guardare a questo fenomeno da una prospettiva culturalmente sensibile. A questo scopo, nell'ambito della seconda fase del progetto, saranno realizzati strumenti utili alla valutazione cognitiva cross-culturale, avviati percorsi di formazione dedicati agli operatori sanitari e realizzati progetti di informazione e supporto per pazienti e familiari.

Progetto Cure Plurime, realizzato da Piccolo Principe Coop. Soc. Onlus con partner del Terzo Settore e finanziato dalla Fondazione Cariplo a valere sul bando "Welfare in Ageing".

Cure Plurime intende valorizzare e facilitare la partecipazione e la collaborazione attive tra persone con decadimento cognitivo, familiari, operatori sociosanitari e la figura del garante. A tal fine viene utilizzato lo strumento dei Percorsi di Cura Condivisi (PdCC): percorsi di cura diversificati,

personalizzati e dedicati alle persone affette da deterioramento cognitivo, in grado di migliorare la qualità della vita e di fornire nuove opportunità sia a loro che ai caregiver.

Gli obiettivi sono la partecipazione attiva nel percorso di cura di tutti i soggetti interessati che formeranno il gruppo; la condivisione delle responsabilità e dei reciproci impegni; la creazione di un contesto di cura in un clima di parità e reciproco rispetto grazie alla presenza del garante.

La figura del garante, in particolare, è quella di una persona volontaria e appositamente formata, in grado di facilitare il cambiamento di contesto e di stile comunicativo, nonché di garantire un confronto alla pari tra i componenti del gruppo.

Progetto SERENADE: Monitoraggio remoto per la diagnosi precoce del declino cognitivo

Il progetto SERENADE nasce per affrontare una sfida importante: il declino cognitivo lieve (Mild Cognitive Impairment, MCI), che può evolvere in demenza, compromettendo le capacità cognitive, lavorative, sociali e relazionali. Le visite mediche occasionali, spesso, non riescono a cogliere i cambiamenti sottili e gradualmente che caratterizzano questa condizione. SERENADE propone una soluzione innovativa: il monitoraggio continuo e remoto del comportamento a casa attraverso l'uso di biomarcatori digitali. Questi dati, raccolti da sensori ambientali e dispositivi indossabili, permettono di analizzare aspetti come la mobilità, le attività quotidiane e i comportamenti, rilevando eventuali segnali precoci di declino cognitivo.

Un elemento chiave del progetto è lo sviluppo di strumenti basati sull'intelligenza artificiale, progettati per supportare i medici nella diagnosi precoce. Questi strumenti non solo identificano anomalie e cambiamenti comportamentali, ma forniscono anche spiegazioni comprensibili e utili per guidare le decisioni cliniche.

L'obiettivo di SERENADE è offrire ai medici un supporto efficace per individuare in anticipo il declino cognitivo, migliorando così la qualità delle diagnosi e, di conseguenza, degli interventi.

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
- Prof.ssa Roberta Magliozzi, Università degli Studi di Verona e Imperial College Londra
- Prof.ssa Maria Pia Sormani, Università di Genova

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, Washington University in St. Louis, St. Louis, MO, USA

- Prof. Jean Charles Lambert, Lille, France
- Dr. Jonathan Rohrer, UCL, London, UK
- Prof. An Goris, Leuven, Belgium
- Dr. Marta Alarcon, Genyo, Granada, Spain
- Prof. Laura Piccio, University of Sydney, NSW, AU

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 2024

Buccellato FR, Galimberti D, Tartaglia GM.

*Beyond dentistry: could prevention and screening for neurodegenerative diseases start in the dental office?*

**Neural Regen Res.** 2024;19(1):156-7. doi: 10.4103/1673-5374.375323. IF=5,9

Di Napoli J, Arighi A, Conte G, Carandini T, Sacchi L, Arcaro M, Fenoglio C, Sorrentino F, Mercurio M, Pietroboni AM, Giardinieri G, Triulzi F, Galimberti D, Scarpini E, Fumagalli GG.

*Predominant right temporal lobe atrophy: Clinical, neuropsychological and structural differences based on amyloid status.*

**Eur J Neurol.** 2024;31(2):e16124. doi: 10.1111/ene.16124. IF=5,1

de Boer SCM, Riedl L, Fenoglio C, Rue I, Landin-Romero R, Matis S, Chatterton Z, Galimberti D, Halliday G, Diehl-Schmid J, Piguet O, Pijnenburg YAL, Ducharme S.

*Rationale and Design of the "Diagnostic and Prognostic Precision Algorithm for behavioral variant Frontotemporal Dementia" (DIPPA-FTD) Study: A Study Aiming to Distinguish Early Stage Sporadic FTD from Late-Onset Primary Psychiatric Disorders.*

**J Alzheimers Dis.** 2024;97(2):963-73. doi: 10.3233/JAD-230829. IF=3,4

Benussi A, Premi E, Grassi M, Alberici A, Cantoni V, Gazzina S, Archetti S, Gasparotti R, Fumagalli GG, Bouzigues A, Russell LL, Samra K, Cash DM, Bocchetta M, Todd EG, Convery RS, Swift I, Sogorb-Esteve A, Heller C, van Swieten JC, Jiskoot LC, Seelaar H, Sanchez-Valle R, Moreno F, Laforce RJ, Graff C, Synofzik M, Galimberti D, Rowe JB, Masellis M, Tartaglia MC, Finger E, Vandenberghe R, Mendonça A, Tiraboschi P, Butler CR, Santana I, Gerhard A, Le Ber I, Pasquier F, Ducharme S, Levin J, Sorbi S, Otto M, Padovani A, Rohrer JD, Borroni B;

*Genetic Frontotemporal dementia Initiative (GENFI). Diagnostic accuracy of research criteria for prodromal frontotemporal dementia.*

**Alzheimers Res Ther.** 2024;16(1):10. doi: 10.1186/s13195-024-01383-1. IF=7,9

Linnemann C, Wilke C, Mengel D, Zetterberg H, Heller C, Kuhle J, Bouzigues A, Russell LL, Foster PH, Ferry-Bolder E, Van Swieten JC, Jiskoot LC, Seelaar H, Moreno F, Borroni B, Sánchez-Valle R, Galimberti D, Laforce R Jr, Graff C, Masellis M, Tartaglia MC, Rowe JB, Finger E, Vandenberghe R, de Mendonca A, Butler CR, Gerhard A, Ducharme S, Ber ILE, Tiraboschi P, Santana I, Pasquier F, Levin J, Otto M, Sorbi S, Rohrer JD, Synofzik M.

*NfL reliability across laboratories, stage-dependent diagnostic performance and matrix comparability in genetic FTD: a large GENFI study.*

**J Neurol Neurosurg Psychiatry.** 2024;95:822–8. doi:10.1136/jnnp-2023-332464. IF=8,8

Chapleau M, La Joie R, Yong K, Agosta F, Allen IE, Apostolova L, Best J, Boon BDC, Crutch S, Filippi M, Fumagalli GG, Galimberti D, Graff-Radford J, Grinberg LT, Irwin DJ, Josephs KA, Mendez MF, Mendez PC, Migliaccio R, Miller ZA, Montembeault M, Murray ME, Nemes S, Pelak

V, Perani D, Phillips J, Pijnenburg Y, Rogalski E, Schott JM, Seeley W, Sullivan AC, Spina S, Tanner J, Walker J, Whitwell JL, Wolk DA, Ossenkoppele R, Rabinovici GD; PCA International Work Group.

*Demographic, clinical, biomarker, and neuropathological correlates of posterior cortical atrophy: an international cohort study and individual participant data meta-analysis.*

**Lancet Neurol.** 2024;23(2):168-77. doi: 10.1016/S1474-4422(23)00414-3. IF=46,5

Swift IJ, Rademakers R, Finch N, Baker M, Ghidoni R, Benussi L, Binetti G, Rossi G, Synofzik M, Wilke C, Mengel D, Graff C, Takada LT, Sánchez-Valle R, Antonell A, Galimberti D, Fenoglio C, Serpente M, Arcaro M, Schreiber S, Vielhaber S, Arndt P, Santana I, Almeida MR, Moreno F, Barandiaran M, Gabilondo A, Stubert J, Gómez-Tortosa E, Agüero P, Sainz MJ, Gohda T, Murakoshi M, Kamei N, Kittel-Schneider S, Reif A, Weigl J, Jian J, Liu C, Serrero G, Greither T, Theil G, Lohmann E, Gazzina S, Bagnoli S, Coppola G, Bruni A, Quante M, Kiess W, Hiemisch A, Jurkutat A, Block MS, Carlson AM, Bråthen G, Sando SB, Grøntvedt GR, Lauridsen C, Heslegrave A, Heller C, Abel E, Gómez-Núñez A, Puey R, Arighi A, Rotondo E, Jiskoot LC, Meeter LHH, Durães J, Lima M, Tábuas-Pereira M, Lemos J, Boeve B, Petersen RC, Dickson DW, Graff-Radford NR, LeBer I, Sellami L, Lamari F, Clot F, Borroni B, Cantoni V, Rivolta J, Lleó A, Fortea J, Alcolea D, Illán-Gala I, Andres-Cerezo L, Van Damme P, Clarimon J, Steinacker P, Feneberg E, Otto M, van der Ende EL, van Swieten JC, Seelaar H, Zetterberg H, Sogorb-Esteve A, Rohrer JD.

*A systematic review of progranulin concentrations in biofluids in over 7,000 people-assessing the pathogenicity of GRN mutations and other influencing factors.*

**Alzheimers Res Ther.** 2024;16(1):66. doi: 10.1186/s13195-024-01420-z. IF=7,9

Falgàs N, Sacchi L, Carandini T, Montagut N, Conte G, Triulzi F, Galimberti D, Arighi A, Sanchez-Valle R, Fumagalli GG.

*Utility of visual rating scales in primary progressive aphasia.*

**Alzheimers Res Ther.** 2024;16(1):73. doi: 10.1186/s13195-024-01442-7. IF=7,9

Samra K, Peakman G, MacDougall AM, Bouzigues A, 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, Ber IL, Tiraboschi P, Santana I, Pasquier F, Levin J, Otto M, Sorbi S, Rohrer JD, Russell LL; Genetic FTD Initiative (GENFI).

*Extending the phenotypic spectrum assessed by the CDR plus NACC FTLD in genetic frontotemporal dementia.*

**Alzheimers Dement** (Amst). 2024;16(2):e12571. doi: 10.1002/dad2.12571. IF=13,0

Pasternak M, Mirza SS, Luciw N, Mutsaerts HJMM, Petr J, Thomas D, Cash D, Bocchetta M, Tartaglia MC, Mitchell SB, Black SE, Freedman M, Tang-Wai D, Rogaeva E, Russell LL, Bouzigues A, van Swieten JC, Jiskoot LC, Seelaar H, Laforce R Jr, Tiraboschi P, Borroni B, Galimberti D, Rowe JB, Graff C, Finger E, Sorbi S, de Mendonça A, Butler C, Gerhard A, Sanchez-Valle R, Moreno F, Synofzik M, Vandenberghe R, Ducharme S, Levin J, Otto M, Santana I, Strafella AP, MacIntosh BJ, Rohrer JD, Masellis M; GENetic Frontotemporal dementia Initiative (GENFI).

*Longitudinal cerebral perfusion in presymptomatic genetic frontotemporal dementia: GENFI results.*

**Alzheimers Dement.** 2024;20(5):3525-42. IF=13,0

Buccellato FR, D'Anca M, Tartaglia GM, Del Fabbro M, Galimberti D.

*Frontotemporal dementia: from genetics to therapeutic approaches.*

**Expert Opin Investig Drugs.** 2024;33(6):561-73. doi: 10.1080/13543784.2024.2349286. IF=4,9

Shi L, Ghezzi L, Fenoglio C, Pietroboni AM, Galimberti D, Pace F, Hardy TA, Piccio L, Don AS. *CSF sphingolipids are correlated with neuroinflammatory cytokines and differentiate neuromyelitis optica spectrum disorder from multiple sclerosis.*

**J Neurol Neurosurg Psychiatry.** 2024;96(1):54-67. doi: 10.1136/jnnp-2024-333774. IF=8,8

Manzoni C, Kia DA, Ferrari R, Leonenko G, Costa B, Saba V, Jabbari E, Tan MM, Albani D, Alvarez V, Alvarez I, Andreassen OA, Angiolillo A, Arighi A, Baker M, Benussi L, Bessi V, Binetti G, Blackburn DJ, Boada M, Boeve BF, Borrego-Ecija S, Borroni B, Bråthen G, Brooks WS, Bruni AC, Caroppo P, Bandres-Ciga S, Clarimon J, Colao R, Cruchaga C, Danek A, de Boer SC, de Rojas I, di Costanzo A, Dickson DW, Diehl-Schmid J, Dobson-Stone C, Dols-Icardo O, Donizetti A, Doppler E, Durante E, Ferrari C, Forloni G, Frangipane F, Fratiglioni L, Kramberger MG, Galimberti D, Gallucci M, García-González P, Ghidoni R, Giaccone G, Graff C, Graff-Radford NR, Grafman J, Halliday GM, Hernandez DG, Hjermind LE, Hodges JR, Holloway G, Huey ED, Illán-Gala I, Josephs KA, Knopman DS, Kristiansen M, Kwok JB, Leber I, Leonard HL, Libri I, Lleo A, Mackenzie IR, Madhan GK, Maletta R, Marquié M, Maver A, Menendez-Gonzalez M, Milan G, Miller BL, Morris CM, Morris HR, Nacmias B, Newton J, Nielsen JE, Nilsson C, Novelli V, Padovani A, Pal S, Pasquier F, Pastor P, Perneczky R, Peterlin B, Petersen RC, Piguet O, Pijnenburg YA, Puca AA, Rademakers R, Rainero I, Reus LM, Richardson AM, Riemenschneider M, Rogaeva E, et al.

*Genome-wide analyses reveal a potential role for the MAPT, MOBP, and APOE loci in sporadic frontotemporal dementia.*

**Am J Hum Genet.** 2024;111(7):1316-29. doi: 10.1016/j.ajhg.2024.05.017 IF=8,1

Ulugut H, Bertoux M, Younes K, Montembeault M, Fumagalli GG, Samanci B, Illán-Gala I, Kuchcinski G, Leroy M, Thompson JC, Kobylecki C, Santillo AF, Englund E, Waldö ML, Riedl L, Van den Stock J, Vandenbulcke M, Vandenbergh R, Laforce R Jr, Ducharme S, Pressman PS, Caramelli P, de Souza LC, Takada LT, Gurvit H, Hansson O, Diehl-Schmid J, Galimberti D, Pasquier F, Miller BL, Scheltens P, Ossenkoppele R, van der Flier WM, Barkhof F, Fox NC, Sturm VE, Miyagawa T, Whitwell JL, Boeve B, Rohrer JD, Gorno-Tempini ML, Josephs KA, Snowden J, Warren JD, Rankin KP, Pijnenburg YAL;

*International rlvFTD Working Group. Clinical recognition of frontotemporal dementia with right anterior temporal predominance: A multicenter retrospective cohort study.*

**Alzheimers Dement.** 2024;20(8):5647-61. doi: 10.1002/alz.14076. IF=13,0

Premi E, Diano M, Mattioli I, Altomare D, Cantoni V, Bocchetta M, Gasparotti R, Buratti E, Pengo M, Bouzigues A, Russell LL, Foster PH, Ferry-Bolder E, Heller C, van Swieten JC, Jiskoot LC, Seelaar H, Moreno F, Sanchez-Valle R, Galimberti D, Laforce R, Graff C, Masellis M, Tartaglia MC, Rowe JB, Finger E, Vandenbergh R, de Mendonça A, Butler CR, Gerhard A, Ducharme S, Le Ber I, Tiraboschi P, Santana I, Pasquier F, Synofzik M, Levin J, Otto M, Sorbi S, Rohrer JD, Borroni B; Coinvestigators GENFI Consortium.

*Impaired glymphatic system in genetic frontotemporal dementia: a GENFI study.*

**Brain Commun.** 2024;6(4):fcae185. doi: 10.1093/braincomms/fcae185. eCollection 2024. IF=4,1

Torso M, Fumagalli G, Ridgway GR, Contarino VE, Hardingham I, Scarpini E, Galimberti D, Chance SA, Arighi A.

*Clinical utility of diffusion MRI-derived measures of cortical microstructure in a real-world memory clinic setting.*

**Ann Clin Transl Neurol.** 2024;11(8):1964-76. doi: 10.1002/acn3.52097. IF=4,4

Monreal E, Fernández-Velasco JI, Álvarez-Lafuente R, Sainz de la Maza S, García-Sánchez MI, Llufríu S, Casanova B, Comabella M, Martínez-Yélamos S, Galimberti D, Ramió-Torrentà L, Martínez-Ginés ML, Aladro Y, Ayuso L, Martínez-Rodríguez JE, Brieva L, Villarrubia N, Eichau S, Zamora J, Rodero-Romero A, Espiño M, Blanco Y, Saiz A, Montalbán X, Tintoré M, Domínguez-Mozo MI, Cuello JP, Romero-Pinel L, Ghezzi L, Pilo de la Fuente B, Pérez-Miralles F, Quiroga-Varela A, Rubio L, Rodríguez-Jorge F, Chico-García JL, Sainz-Amo R, Masjuan J, Costa-Frossard L, Villar LM.

*Serum biomarkers at disease onset for personalized therapy in multiple sclerosis.*



**Brain** 2024;147(12):4084-93 doi: 10.1093/brain/awae260. IF=11,9

Serpente M, Fenoglio C, Arcaro M, Carandini T, Sacchi L, Pintus M, Rotondo E, Borracci V, Ghezzi L, Bouzigues A, Russell LL, Foster PH, Ferry-Bolder E, van Swieten JC, Jiskoot LC, Seelaar H, Sánchez Valle R, Laforce R, Graff C, Vandenberghe R, de Mendonça A, Tiraboschi P, Santana I, Gerhard A, Levin J, Sorbi S, Otto M, Pasquier F, Ducharme S, Butler CR, Le Ber I, Finger E, Tartaglia MC, Masellis M, Rowe JB, Synofzik M, Moreno F, Borroni B, Rohrer JD, Arighi A, Galimberti D; Genetic FTD Initiative GENFI. Long Non-Coding RNA

*Profile in Genetic Symptomatic and Presymptomatic Frontotemporal Dementia: A GENFI Study.*

**J Alzheimers Dis.** 2024;100(s1):S187-S196. doi: 10.3233/JAD-240557. IF=3,4

Fenoglio C, Serpente M, Arcaro M, Carandini T, Sacchi L, Pintus M, Rotondo E, Borracci V, Ghezzi L, Bouzigues A, Russell LL, Foster PH, Ferry-Bolder E, van Swieten JC, Jiskoot LC, Seelaar H, Sánchez Valle R, Laforce R, Graff C, Vandenberghe R, de Mendonça A, Tiraboschi P, Santana I, Gerhard A, Levin J, Sorbi S, Otto M, Pasquier F, Ducharme S, Butler CR, Ber IL, Finger E, Carmela Tartaglia M, Masellis M, Rowe JB, Synofzik M, Moreno F, Borroni B, Rohrer JD, Arighi A, Galimberti D;

*Genetic FTD Initiative GENFI. Inflammatory plasma profile in genetic symptomatic and presymptomatic Frontotemporal Dementia -A GENFI study.*

**Brain Behav Immun.** 2024;122:231-40. doi: 10.1016/j.bbi.2024.08.030. IF=8,8

Sacchi L, D'Agata F, Campisi C, Arcaro M, Carandini T, Örszik B, Dal Maschio VP, Fenoglio C, Pietroboni AM, Ghezzi L, Serpente M, Pintus M, Conte G, Triulzi F, Lopiano L, Galimberti D, Cercignani M, Bozzali M, Arighi A. A "glympse" into neurodegeneration: Diffusion MRI and cerebrospinal fluid aquaporin-4 for the assessment of glymphatic system in Alzheimer's disease and other dementias. *Hum Brain Mapp.* 2024;45(12):e26805. IF=3,3

Schönecker S, Martinez-Murcia FJ, Denecke J, Franzmeier N, Danek A, Wagemann O, Prix C, Wlasich E, Vöglein J, Loosli SV, Brauer A, Górriz Sáez JM, Bouzigues A, Russell LL, Foster PH, Ferry-Bolder E, van Swieten JC, Jiskoot LC, Seelaar H, Sanchez-Valle R, Laforce R Jr, Graff C, Galimberti D, Vandenberghe R, de Mendonça A, Tiraboschi P, Santana I, Gerhard A, Sorbi S, Otto M, Pasquier F, Ducharme S, Butler C, Le Ber I, Finger E, Tartaglia MC, Masellis M, Rowe JB, Synofzik M, Moreno F, Borroni B, Rohrer JD;

*Genetic Frontotemporal Dementia Initiative (GENFI); Priller J, Höglinger GU, Levin J. Frequency and Longitudinal Course of Behavioral and Neuropsychiatric Symptoms in Participants With Genetic Frontotemporal Dementia.*

**Neurology.** 2024;103(8):e209569. doi: 10.1212/WNL.0000000000209569. IF=7,7

Liu X, Jones PS, Pasternak M, Masellis M, Bouzigues A, Russell LL, Foster PH, Ferry-Bolder E, van Swieten J, Jiskoot L, Seelaar H, Sanchez-Valle R, Laforce R, Graff C, Galimberti D, Vandenberghe R, de Mendonça A, Tiraboschi P, Santana I, Gerhard A, Levin J, Sorbi S, Otto M, Pasquier F, Ducharme S, Butler C, Le Ber I, Finger E, Tartaglia MC, Synofzik M, Moreno F, Borroni B, Rohrer JD, Tsvetanov KA, Rowe JB; GENFI consortium.

*Frontoparietal network integrity supports cognitive function in pre-symptomatic frontotemporal dementia: Multimodal analysis of brain function, structure, and perfusion.*

**Alzheimers Dement.** 2024;20(12):8576-94.doi: 10.1002/alz.14299. IF=13,0

Moreira PI, Avila J, Galimberti D, Pappolla MA, Plascencia-Villa G, Sorensen AA, Zhu X, Perry G. *Therapeutic Trials in Alzheimer's Disease: Where Are We Now?*

**J Alzheimers Dis.** 2024;101(s1):S1-S2. doi: 10.3233/JAD-249016 IF=3,4

Saez-Atienzar S, Souza CDS, Chia R, Beal SN, Lorenzini I, Huang R, Levy J, Burciu C, Ding J, Gibbs JR, Jones A, Dewan R, Pensato V, Peverelli S, Corrado L, van Vugt JJFA, van Rheenen W,

Tunca C, Bayraktar E, Xia M; International ALS Genomics Consortium; ITALSGEN Consortium; SLAGEN Consortium; Project MinE ALS Sequencing Consortium; Iacoangeli A, Shatunov A, Tiloca C, Ticozzi N, Verde F, Mazzini L, Kenna K, Al Khleifat A, Opie-Martin S, Raggi F, Filosto M, Piccinelli SC, Padovani A, Gagliardi S, Inghilleri M, Ferlini A, Vasta R, Calvo A, Moglia C, Canosa A, Manera U, Grassano M, Mandrioli J, Mora G, Lunetta C, Tanel R, Trojsi F, Cardinali P, Gallone S, Brunetti M, Galimberti D, Serpente M, Fenoglio C, Scarpini E, Comi GP, Corti S, Del Bo R, Ceroni M, Pinter GL, Taroni F, Bella ED, Bersano E, Curtis CJ, Lee SH, Chung R, Patel H, Morrison KE, Cooper-Knock J, Shaw PJ, Breen G, Dobson RJB, Dalgard CL; American Genome Center; Scholz SW, Al-Chalabi A, van den Berg LH, McLaughlin R, Hardiman O, Cereda C, Sorarù G, D'Alfonso S, Chandran S, Pal S, Ratti A, Gellera C, Johnson K, Doucet-O'Hare T, Pasternack N, Wang T, Nath A, Siciliano G, Silani V, Başak AN, Veldink JH, Camu W, Glass J, et al.

*Mechanism-free repurposing of drugs for C9orf72-related ALS/FTD using large-scale genomic data.* **Cell Genom.** 2024;4(11):100679. doi: 10.1016/j.xgen.2024.100679. IF=11,1

Borrego-Ecija S, Juncà-Parella J, Vandebergh M, Pérez Millan A, Balasa M, Llado A, Bouzigues A, Russell LL, Foster PH, Ferry-Bolder E, Van Swieten JC, Jiskoot LC, Seelaar H, Laforce R Jr, Graff C, Galimberti D, Vandenberghe R, de Mendonça A, Tiraboschi P, Santana I, Gerhard A, Levin J, Sorbi S, Otto M, Pasquier F, Ducharme S, Butler C, Le Ber I, Finger E, Tartaglia MC, Masellis M, Rowe JB, Synofzik M, Moreno F, Borroni B, Rademakers R, Rohrer JD, Sánchez-Valle R; Genetic Frontotemporal Initiative (GENFI). *Association of Initial Side of Brain Atrophy With Clinical Features and Disease Progression in Patients With GRN Frontotemporal Dementia.* **Neurology** 2024;103(11):e209944. doi: 10.1212/WNL.0000000000209944. IF=7,7

Best PT, Van Swieten JC, Jiskoot LC, Moreno F, Sánchez-Valle R, Laforce R Jr, Graff C, Masellis M, Tartaglia C, Rowe JB, Borroni B, Finger E, Synofzik M, Galimberti D, Vandenberghe R, de Mendonça A, Butler C, Gerhard A, Le Ber I, Tiraboschi P, Santana I, Pasquier F, Levin J, Otto M, Sorbi S, Seelaar H, Bouzigues A, Cash DM, Russell LL, Bocchetta M, Rohrer JD, Devenyi GA, Chakravarty M, Ducharme S; *Genetic Frontotemporal Dementia Initiative (GENFI). Association of Changes in Cerebral and Hypothalamic Structure With Sleep Dysfunction in Patients With Genetic Frontotemporal Dementia.* **Neurology.** 2024;103(11):e209829. doi: 10.1212/WNL.0000000000209829. IF=7,7

Martin K, Cofield SS, Cross AH, Goss AM, Raji CA, Rinker JR, Wu GF, Blair J, Fuchs A, Ghezzi L, Green K, Pace F, Pastori G, Taylor MG, Piccio L, Wingo BC. *Functional outcomes of diets in multiple sclerosis (FOOD for MS): Protocol for a parallel arm randomized feeding trial for low glycemic load and calorie restriction.* **Contemp Clin Trials.** 2024;143:107584. doi: 10.1016/j.cct.2024.107584. Epub 2024 May 29. IF=2,0

Trivedi RR, Archambault AS, Pavlak C, Gastaldi M, Cantoni C, Ghezzi L, Cross AH, Miller TM, Wu GF. *Prevalence of anti-myelin oligodendrocyte glycoprotein antibodies across neuroinflammatory and neurodegenerative diseases.* **J Neurol Sci.** 2024;461:123041. doi: 10.1016/j.jns.2024.123041. IF=3,7

Iaffaldano P, Portaccio E, Lucisano G, Simone M, Manni A, Guerra T, Paolicelli D, Betti M, De Meo E, Pastò L, Razzolini L, Rocca MA, Ferrè L, Brescia Morra V, Patti F, Zaffaroni M, Gasperini C, De Luca G, Ferraro D, Granella F, Pozzilli C, Romano S, Gallo P, Bergamaschi R, Coniglio MG, Lus G, Vianello M, Banfi P, Lugesesi A, Totaro R, Spitaleri D, Cocco E, Di Palma F, Maimone D, Valentino P, Torri Clerici V, Protti A, Maniscalco GT, Salemi G, Pesci I, Aguglia U, Lepore V, Filippi M, Trojano M, Amato MP; *Italian Multiple Sclerosis Register. Multiple Sclerosis Progression and Relapse Activity in Children.* **JAMA Neurol.** 2024;81(1):50-58. doi: 10.1001/jamaneurol.2023.4455. IF=20,4

Omrani M, Chiarelli RR, Acquaviva M, Bassani C, Dalla Costa G, Montini F, Preziosa P, Pagani L, Grassivaro F, Guerrieri S, Romeo M, Sangalli F, Colombo B, Moiola L, Zaffaroni M, Pietroboni A, Protti A, Puthenparampil M, Bergamaschi R, Comi G, Rocca MA, Martinelli V, Filippi M, Farina C. *Machine learning-driven diagnosis of multiple sclerosis from whole blood transcriptomics*.

**Brain Behav Immun.** 2024;121:269-77. doi: 10.1016/j.bbi.2024.07.039. IF=8,8

Crema C, Verde F, Tiraboschi P, Marra C, Arighi A, Fostinelli S, Giuffrè GM, Maschio VPD, L'Abbate F, Solca F, Poletti B, Silani V, Rotondo E, Borracci V, Vimercati R, Crepaldi V, Inguscio E, Filippi M, Caso F, Rosati AM, Quaranta D, Binetti G, Pagnoni I, Morreale M, Burgio F, Maserati MS, Capellari S, Pardini M, Girtler N, Piras F, Piras F, Lalli S, Perdixi E, Lombardi G, Tella SD, Costa A, Capelli M, Fundaro C, Manera M, Muscio C, Pellencin E, Lodi R, Tagliavini F, Redolfi A. *Medical Information Extraction With NLP-Powered QABots: A Real-World Scenario*.

**IEEE J Biomed Health Inform.** 2024;28(11):6906-17. doi: 10.1109/JBHI.2024.3450118. IF=6,7

Conca F, Esposito V, Catricalà E, Manenti R, L'Abbate F, Quaranta D, Giuffrè GM, Rossetto F, Solca F, Orso B, Inguscio E, Crepaldi V, De Matteis M, Rotondo E, Manera M, Caruso G, Catania V, Canu E, Rundo F, Cotta Ramusino M, Filippi M, Fundarò C, Piras F, Arighi A, Tiraboschi P, Stanzani Maserati M, Pardini M, Poletti B, Silani V, Marra C, Di Tella S, Cotelli M, Lodi R, Tagliavini F, Cappa SF.

*Clinical validity of the Italian adaptation of the Uniform Data Set Neuropsychological Test Battery (I-UDSNB) in Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease*.

**Alzheimers Res Ther.** 2024;16(1):98. doi: 10.1186/s13195-024-01465-0. IF=7,9

Meli C, Cerami C, Arighi A, Mitolo M, Serra L, Bozzali M, Bruni AC, Marra C, Lavorgna L, Dodich A;

*SINdem4juniors, SINdem Dementia Digital He@lth working groups. Are we...social enough? Use of social media among members of the Italian Society of Neurology for the study of dementia*.

**Neurol Sci.** 2024;45(8):4027-31. doi: 10.1007/s10072-024-07550-4. IF=2,7

## 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.ssa L. Ghezzi – Fellow Editor Journal of Neuroimmunology

## 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)
- Dott. A. Arighi - membro del Consiglio Direttivo della SINDEM
- Dott. A. Arighi – membro del Comitato Tecnico Scientifico di Airalz
- Prof.ssa D. Galimberti – membro della Società Italiana di Biologia e Genetica
- Prof.ssa D. Galimberti – membro del Comitato Tecnico Scientifico di Airalz
- Dott.ssa L. Ghezzi – membro della società Italiana di Neurologia (SIN) e dell'Associazione Italiana Neuroimmunologia (AINI)

## 7. MEMBERSHIP ASSEGNAZIONE GRANTS

- Prof. ssa D. Galimberti chair della commissione per l'assegnazione grants della Fundacao para a Ciencia e a Tecnologia – FCT (Portogallo)

- 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 (2024-2026) – prof. D. Galimberti
- 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) – prof. E. Scarpini
- 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) – prof. D. Galimberti
- - 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) – Prof. D. Galimberti
- Ricerca Corrente IRCCS Policlinico E 31.636
- 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) – Dott.ssa M. Serpente
- Progetto di Ricerca PNRR-POC-2023-12377354 “Functionalized point of care and 3D printed dental aligners as devices for early detection of neurodegenerative diseases”, Ministero della Salute, E 700.000,00 – prof. D. Galimberti
- Grant di ricerca RG-2311-42385 “Characterization and quantification of Mucosal Associated Invariant T cells in patients with Multiple Sclerosis at time of diagnosis and in response to different disease modifying therapies”. National Multiple Sclerosis Society (NMSS). E 18.457,23 (2023-2025) – Dott.ssa L. Ghezzi

## **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 2024, 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.

Sheth KN, Albers GW, Saver JL, Campbell BCV, Molyneaux BJ, Hinson HE, Cordonnier C, Steiner T, Toyoda K, Wintermark M, Littauer R, Collins J, Lucas N, Nogueira RG, Simard JM, Wald M, Dawson K, Kimberly WT; CHARM Trial investigators.

*Intravenous glibenclamide for cerebral oedema after large hemispheric stroke (CHARM): a phase 3, double-blind, placebo-controlled, randomised trial.*

**Lancet Neurol.** 2024 Dec;23(12):1205-1213.



## **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

Dott. Alessandro Di Maio

Dott. Vidal Yahya

### **BIOLOGI**

Dr.ssa Manuela Magni

### **STUDY COORDINATOR**

Diego Scalabrini

### ***Laboratorio Malattia di Parkinson e altri disturbi del movimento (Responsabile Dott. A. Di Fonzo)***

Le attività del gruppo di ricerca per lo studio della malattia di Parkinson ed altri disturbi del movimento si sono focalizzate nel corso del 2024 sulle sperimentazioni cliniche di nuove terapie per i disturbi del movimento (malattia di Parkinson, atrofia multisistemica) e sulla ricerca di base degli aspetti genetici e dei modelli cellulari volti a indagare i meccanismi di malattia.

Per quanto riguarda i trials clinici e farmacologici, sono stati avviati tre studi interventistici di fase 2, in particolare:

- studio randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo di efficacia, sicurezza, tollerabilità, farmacodinamica e farmacocinetica di una molecola enhancer dell'attività della glucocerebrosidasi in soggetti affetti da malattia di Parkinson con una variante patogena nel gene *GBA1* (Bial).
- studio randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo, per valutare efficacia, sicurezza, tollerabilità, farmacodinamica e farmacocinetica di una molecola candidata che agisce sul metabolismo del ferro per ridurre l'aggregazione di alfa-sinucleina e lo stress ossidativo in pazienti affetti da atrofia multisistemica (Alterity);
- studio randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo, per valutare efficacia, sicurezza, tollerabilità, farmacodinamica e farmacocinetica della somministrazione endovenosa di una nuova molecola in pazienti affetti da atrofia multisistemica (Takeda);

È proseguito e ultimato lo studio osservazionale *Parkinson's Outcome Project* promosso dalla Parkinson's Foundation, che ha come obiettivo la valutazione degli aspetti clinico-assistenziali, della storia naturale della malattia di Parkinson e della qualità di vita dei pazienti.

Il progetto "PreDYT" finanziato dal bando europeo EJP-RD in collaborazione con le Università di Monaco (Dr. Michael Zech), Sorbonne (Dr. Marie Vidailhet), Lussemburgo (Dr. Enrico Glaab) e Zurigo (Dr. Manuel Schroeter) ha avuto enormi sviluppi in termini di generazione di scoperta di nuovi geni associati a distonia e creazione di organoidi striatali. Il progetto è volto a definire biomarcatori per la diagnosi e la prognosi di forme di distonia.

Il gruppo ha continuato i tre studi osservazionali. In particolare, il primo studio è promosso dal Centro per le Malattie neurodegenerative dell'A.O.U. Ruggi d'Aragona di Salerno che ha portato alla creazione di un registro nazionale su disordini del movimento rari (Paralisi Sopranucleare Progressiva) e tremori. È terminato lo studio AIFA sui predittori di sviluppo di fluttuazioni motorie/non motorie e discinesie in relazione al genere nella malattia di Parkinson. È stato portato a termine lo studio Z7219N04, studio osservazionale multicentrico volto a confrontare l'efficacia di safinamide, rasagilina e altra "terapia standard" come terapia aggiuntiva a levodopa (L-dopa) in pazienti affetti da malattia di Parkinson (MP) fluttuanti.

In riferimento ai progetti mirati allo studio dei meccanismi di malattia in modelli cellulari:

- è stato completato e pubblicato sulla rivista Brain il progetto mirato allo studio della patologia alfa-sinucleina e del ruolo della glucocerebrosidasi nelle forme di malattia di Parkinson legate alla mutazione del gene *GBA1*. Il progetto ha portato alla stesura di un lavoro originale, che è attualmente in fase di revisione;
- è in fase di chiusura lo studio su organoidi striatali di pazienti affetti da atrofia multisistemica che ha come obiettivo la riproduzione del fenotipo neuropatologico in un modello fino ad ora mai esplorato per questa patologia;
- è in corso di sottomissione per pubblicazione lo studio che indaga il ruolo del recettore del glutammato nella malattia di Parkinson associata a mutazioni del gene *Parkin* in modelli cellulari derivati da cellule staminali pluripotenti indotte (iPSCs), in particolare astrociti e organoidi mesencefalici;

- è stato portato avanti il progetto in collaborazione con l'Università di Brescia che indaga l'efficacia di due nuove molecole sperimentali nel ridurre la patologia di alfa-sinucleina negli organoidi mesencefalici derivati da pazienti con mutazioni nel gene *SNCA*.

### **Collaborazioni internazionali:**

Per quanto concerne le collaborazioni, è stata continuata quella 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 inoltre 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. L'attività clinico assistenziale è stata implementata in termini di gestione dei pazienti ricoverati nell'Unità Operativa di Neurologia e di attività ambulatoriale con il sostegno da parte del Fresco Institute Center of Excellence.

### **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”

Ministero della Salute, PNRR: “Next-Generation Neuroimmunology and Long-Read Sequencing Technology as an advanced approach to diagnose neurodegenerative disorders”

### **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 delle persone del team. La Dr.ssa Franco e il Dr. Frattini, che insieme alla dr.ssa Trezzi e al dr. Monfrini nel corso del 2024 si sono dedicati a implementare gli ambulatori dedicati alle persone con m. di Parkinson studi sui disturbi del movimento.

### **Lavori scientifici**

Monfrini E, Minardi R, Valzania F, Calandra-Buonaura G, Mandich P, Di Fonzo A; ParkNet Study Group.

*RAB32 mutation in Parkinson's disease.*

**Lancet Neurol.**

2024 Oct;23(10):961-962. doi: 10.1016/S1474-4422(24)00324-7. Erratum in: Lancet Neurol. 2024 Dec;23(12):e15. doi: 10.1016/S1474-4422(24)00452-6. PMID: 39304252.

Menon PJ, Sambin S, Criniere-Boizet B, Courtin T, Tesson C, Casse F, Ferrien M, Mariani LL, Carvalho S, Lejeune FX, Rebbah S, Martet G, Houot M, Lanore A, Mangone G, Roze E, Vidailhet M, Aasly J, Gan Or Z, Yu E, Dauvilliers Y, Zimprich A, Tomantschger V, Pirker W, Álvarez I, Pastor P, Di Fonzo A, Bhatia KP, Magrinelli F, Houlden H, Real R, Quattrone A, Limousin P, Korlipara P, Foltynie T, Grosset D, Williams N, Narendra D, Lin HP, Jovanovic C, Svetel M, Lynch T, Gallagher A, Vandenberghe W, Gasser T, Brockmann K, Morris HR, Borsche M, Klein C, Corti O, Brice A, Lesage S, Corvol JC;

*French Parkinson disease Genetics Study Group (PDG). Genotype-phenotype correlation in PRKN-associated Parkinson's disease.*

**NPJ Parkinsons Dis.** 2024 Mar 29;10(1):72. doi:

10.1038/s41531-024-00677-3. PMID: 38553467; PMCID: PMC10980707.

Monfrini E, Avanzino L, Palermo G, Bonato G, Brescia G, Ceravolo R, Cantarella G, Mandich P, Prokisch H, Storm Van's Gravesande K, Straccia G, Elia A, Reale C, Panteghini C, Zorzi G, Eleopra R, Erro R, Carecchio M, Garavaglia B, Zech M, Romito L, Di Fonzo A.

*Dominant VPS16 Pathogenic Variants: Not Only Isolated Dystonia.*

**Mov Disord Clin Pract.** 2024 Jan;11(1):87-93. doi:

10.1002/mdc3.13927. Epub 2023 Dec 12. PMID: 38291845; PMCID: PMC10828607.

Arienti F, Casazza G, Franco G, Lazzeri G, Monfrini E, Di Maio A, Erro R, Barone P, Tamma F, Caputo E, Volontè MA, Cacciaguerra L, Pilotto A, Padovani A, Comi C, Magistrelli L, Valzania F, Cavallieri F, Avanzino L, Marchese R, Sensi M, Carroli G, Eleopra R, Cilia R, Spagnolo F, Tessitore A, De Micco R, Ceravolo R, Palermo G, Malaguti MC, Lopiano L, Tocco P, Sorbera C, Tinazzi M, Ciammola A, Ottaviani D, Valente EM, Albanese A, Blandini F, Canesi M, Antonini A, Carecchio M, Fetoni V, Colosimo C, Volpe D, Tambasco N, Cossu G, Zappia M; Italian Study Group on Family History in PD; Di Fonzo A.

*Family History in Parkinson's Disease: A National Cross-Sectional Study.*

**Mov Disord Clin Pract.** 2024

Nov;11(11):1434-1440. doi: 10.1002/mdc3.14206. Epub 2024 Sep 13. PMID: 39269187;

PMCID: PMC11542285.

Marano M, Zizzo C, Malaguti MC, Bacchin R, Cavallieri F, De Micco R, Spagnolo F, Bentivoglio AR, Schirinzi T, Bovenzi R, Ramat S, Erro R, Sorrentino C, Sucapane P, Pilotto A, Lupini A, Magliozzi A, Di Vico I, Carecchio M, Bonato G, Cilia R, Colucci F, Tamma F, Caputo E, Mostile G, Arabia G, Modugno N, Zibetti M, Ceravolo MG, Tambasco N, Cossu G, Valzania F, Manganotti P, Di Lazzaro V, Zappia M, Fabbrini G, Tinazzi M, Tessitore A, Duro G, Di Fonzo A.

*Increased glucosylsphingosine levels and Gaucher disease in GBA1-associated Parkinson's disease.*

**Parkinsonism Relat Disord.** 2024 Jul;124:107023. doi:

10.1016/j.parkreldis.2024.107023. Epub 2024 Jun 1. PMID: 38843618.

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.** 2024 Mar 13;95(4):309-315. doi:

10.1136/jnnp-2023-332387. PMID: 37879897; PMCID: PMC10958298.

Pilotto A, Carini M, Lupini A, di Fonzo A, Monti E, Bresciani R, Padovani A, Biasiotto G.  
*The p.Val234Met LRP10 likely pathogenic variant associated with Parkinson's disease: Possible molecular implications. Parkinsonism Relat Disord.*

2024 Jun;123:106973. doi: 10.1016/j.parkreldis.2024.106973.

**Epub** 2024 Apr 17.

PMID: 38653012.

Erro R, Lazzeri G, Terranova C, Paparella G, Gigante AF, De Micco R, Magistrelli L, Di Biasio F, Valentino F, Moschella V, Pilotto A, Esposito M, Olivola E, Malaguti MC, Ceravolo R, Dallochio C, Spagnolo F, Nicoletti A, De Rosa A, Di Giacomo R, Sorrentino C, Padovani A, Altavista MC, Pacchetti C, Marchese R, Contaldi E, Tessitore A, Misceo S, Bologna M, Rizzo V, Franco G, Barone P;

*TITAN study group. Comparing Essential Tremor with and without Soft Dystonic Signs and Tremor Combined with Dystonia: The TITAN Study.*

**Mov Disord Clin Pract.** 2024 Jun;11(6):645-654. doi: 10.1002/mdc3.14026. Epub 2024 Apr 9.

PMID: 38594807; PMCID: PMC11145151.

Monfrini E, Baso G, Ronchi D, Meneri M, Gagliardi D, Quetti L, Verde F, Ticozzi N, Ratti A, Di Fonzo A, Comi GP, Ottoboni L, Corti S.

*Unleashing the potential of mRNA therapeutics for inherited neurological diseases.*

**Brain.** 2024 Sep 3;147(9):2934-2945. doi: 10.1093/brain/awae135. PMID: 38662782; PMCID: PMC11969220.

Yahya V, Dilella R, Del Bo R, Magni M, Biella F, Salani S, Fortunato F, Scola E, Di Fonzo A, Monfrini E.

*Soft cerebellar signs unveil RARS2-related epilepsy.*

**Epileptic Disord.** 2024 Aug;26(4):540-543. doi: 10.1002/epd2.20237. Epub 2024 May 11. PMID: 38733322.

Abati E, Gagliardi D, Manini A, Del Bo R, Ronchi D, Meneri M, Beretta F, Sarno A, Rizzo F, Monfrini E, Di Fonzo A, Pellicchia MT, Brusati A, Silani V, Comi GP, Ratti A, Verde F, Ticozzi N, Corti S.

*Investigating the prevalence of <i>MFN2</i> mutations in amyotrophic lateral sclerosis: insights from an Italian cohort.*

**Brain Commun.** 2024 Sep 23;6(5):fcae312. doi: 10.1093/braincomms/fcae312.

PMID: 39315308; PMCID: PMC11417610.

Ghilardi MF, Quartarone A, Di Rocco A, Calabrò RS, Luo S, Liu H, Norcini M, Canesi M, Cian V, Zarucchi M, Ortelli P, Volpe D, Bakdounes L, Castelli D, Di Fonzo A, Franco G, Frattini E, Avanzino L, Pelosin E, Ogliastro C, Ceravolo R, Palermo G, Tommasini L, Frosini D, Parnetti L, Tambasco N, Nigro P, Simoni S, Schmidt P.

*Supplementing Best Care with Specialized Rehabilitation Treatment in Parkinson's Disease: A Retrospective Study by Different Expert Centers.*

**J Clin Med.** 2024 May 20;13(10):2999. doi: 10.3390/jcm13102999. PMID: 38792540; PMCID: PMC11122594.

- Yahya V, Baiata C, Monfrini E, Correia S, Brescia G, Di Fonzo A, Moro E.  
*Dystonic Tremor as Main Clinical Manifestation of SCA21.*  
**Mov Disord Clin Pract.** 2024 Nov;11(11):1445-1450. doi: 10.1002/mdc3.14220.  
Epub 2024 Sep 28. PMID: 39340213; PMCID: PMC11542281.
- Monfrini E, Ciolfi A, Ferilli M, Tartaglia M, Di Fonzo A.  
*Response to: Are there two disjunct episignatures for KMT2B-related disease?*  
**Brain Commun.** 2024  
Dec 9;6(6):fcae384. doi: 10.1093/braincomms/fcae384. PMID: 39659970; PMCID:  
PMC11631119.
- Malaguti MC, Di Fonzo A, Longo C, Di Giacompo R, Papagno C, Donner D, Rozzanigo U, Monfrini E.  
*A Novel Pathogenic PSEN1 Variant in a Patient With Dystonia-Parkinsonism Without Dementia.*  
**J Mov Disord.** 2024 Jan;17(1):102-105.  
doi: 10.14802/jmd.23125. Epub 2023 Sep 14. PMID: 37704566; PMCID: PMC10846968.
- Di Rauso G, Cavallieri F, Monfrini E, Fraternali A, Fioravanti V, Grisanti S, Gessani A, Campanini I, Merlo A, Toschi G, Napoli M, Pascarella R, Silipigni R, Finelli P, Paul JJ, Bauer P, Versari A, Di Fonzo A, Valzania F.  
*A Case of 18p Chromosomal Deletion Encompassing GNAL in a Patient With Dystonia-Parkinsonism.*  
**J Mov Disord.** 2024 Apr;17(2):236-238. doi: 10.14802/jmd.23222. Epub 2024 Jan 23.  
PMID: 38258373; PMCID: PMC11082610.
- Cavallieri F, Lucchi C, Grisanti S, Monfrini E, Fioravanti V, Toschi G, Di Rauso G, Rossi J, Di Fonzo A, Biagini G, Valzania F.  
*Neurosteroid Levels in GBA Mutated and Non-Mutated Parkinson's Disease: A Possible Factor Influencing Clinical Phenotype?*  
**Biomolecules.** 2024 Aug 17;14(8):1022. doi:  
10.3390/biom14081022. PMID: 39199409; PMCID: PMC11352262.
- Yahya V, Monfrini E, Celato A, Botti I, Guez S, Scola E, Del Bo R, Di Fonzo A, Dilella R.  
*Childhood-onset focal epilepsy and acute para-infectious encephalopathy in a patient with biallelic QARS1 variants.*  
**Neurol Sci.** 2025  
Mar;46(3):1395-1398. doi: 10.1007/s10072-024-07957-z. Epub 2024 Dec 24. PMID:  
39715963.
- Galota F, Di Rauso G, Sireci F, Castellucci A, Cavallieri F, Monfrini E, Fioravanti V, Campanini I, Merlo A, Napoli M, Cavazzuti L, Grisanti S, Ferrari S, Di Fonzo A, Valzania F.  
*Obsessive-compulsive disorder as a first manifestation of Ataxia with Oculomotor Apraxia type 2 due to a novel mutation of SETX gene.*  
**Neurol Sci.** 2025 Jan;46(1):469-472. doi:  
10.1007/s10072-024-07761-9. Epub 2024 Sep 19. PMID: 39294407.

#### Rapporti di collaborazione nazionali:

- Prof. 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
- Prof. 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**
- Prof. Elena Cattaneo, **Department of Biosciences and Centre for Stem cell Research, Università degli Studi 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**
- Dr. 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**
- Dr. Francesco Cavallieri, **Struttura Operativa Complessa di Neurologia dell'Arcispedale S. Maria Nuova, AUSL - IRCCS di Reggio Emilia**
- Prof. Nicoletta Plotegher, **Università degli Studi di Padova**
- Dr. Luigi Romito, **IRCCS Istituto C. Besta, Milano**
- Dr. Elena Vezzoli, **Università Vita-Salute San Raffaele**

#### Rapporti di collaborazione Internazionali:

- Prof. Michela Deleidi, **Institut Imagine, Paris, France**
- Prof. Glenda Halliday, **University of Sydney, Australia**
- Prof. Catarina Quinzii, **Columbia University, New York, 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, Salpetriere 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**



**U.O. NEUROLOGIA e U.O. NEUROFISIOLOGIA LABORATORIO  
SPERIMENTALE DI NEUROSCIENZE ISTITUTO AUXOLOGICO  
ITALIANO IRCCS**

**DIRETTORE:**

Prof. Dott. Vincenzo Silani

**DIRETTORE U.O. NEUROLOGIA**

Prof. Nicola Ticozzi

**DIRETTORE U.O. NEUROFISIOPATOLOGIA**

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. Edoardo Aiello

Dott.ssa Annalisa Lafronza

Dott.ssa Alessandra Gnesa

Dott.ssa Roberta Fratoni

Dott.ssa Silvia Torre

Dott.ssa Alice Zanin

Dott.ssa Giulia De Luca

Dott.ssa Curti Beatrice

Elisa Camporeale

**PROFESSORE EMERITO CONSULENTE**

Prof Stefano Cappa

**PNEUMOLOGO**

Dott. Paolo Banfi

**CONSULENTE NEUROLOGO**

Dott. Riccardo Doronzo

**TECNICO DI NEUROFISIOLOGIA  
COORDINATORE CENTRO TRIAL CLINICI**

Dott. Gianluca Demirtzidis

**STUDY NURSE CENTRO TRIAL CLINICI**

Dott.ssa Martina Sodano

**TECNICO NEUROFISIOLOGIA**

Barbara Riccardi

Francesca Gregorini

Anna Motta

Valeria Di Stefano

Aurora Cremonesi

Davide Reggi

**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.ssa Chiara Lattuada

Dott.ssa Ilaria Milone

### **BIOTECNOLOGI**

Dott. Valeria Casiraghi

Dott. Anna De Gobbi

Dott.ssa Sabrina Invernizzi

Dott. Enrico Pellegrini

Dott.ssa Serena Santangelo

### **NEUROLOGA - DOTTORANDA**

Dott.ssa Arianna Manini

### **SPECIALISTA IN GENETICA MEDICA**

Dott.ssa Silvia Peverelli

### **RAPPORTI DI COLLABORAZIONE NAZIONALI**

Prof. Giacomo Comi, Prof. Stefania Corti, Dott.ssa Daniela Galimberti, Dott. Alessio di Fonso  
“Centro Dino Ferrari” IRCCS Ca’ Granda – Ospedale Maggiore Policlinico

Dott.ssa Cinzia Gellera, Dott. Franco Taroni, Prof. Giuseppe Lauria Pinter, Dott.ssa Giacomina Rossi,  
Dott. Fabrizio Tagliavini, Dott. Pietro Tiraboschi, Dott. Fabio Moda IRCCS Istituto C. Besta, Milano

Prof.ssa Valeria Sansone Centro Clinico Nemo

Prof.ssa Carolina Lombardi Centro Sonno Istituto Auxologico Italiano IRCCS

Prof. Luca Persani Dipartimento di Endocrinologia IRCCS Istituto Auxologico Italiano

Prof.ssa Palma Finelli, Dott.ssa Daniela Giardino, Laboratorio di Citogenetica IRCCS Istituto  
Auxologico Italiano

Dott. Luigi Sironi, Dott. A.E. Rigamonti Dipartimento di Farmacologia Università di Milano - CEND

Prof. Fabio Triulzi Dott. Giorgio Conte Dott. Alessandro Sillani Dott.ssa Clara Sina Ing. Valeria Contarino IRCCS Ospedale Maggiore Policlinico

Prof. Massimo Filippi Prof. ssa Federica Agosta Neuroimaging Research Unit and Department of Neurology, Institute of Experimental Neurology,

Dott. Emanuele Buratti, Dott. Marco Baralle Laboratory of Molecular Pathology International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology (ICGEB), Trieste

Prof. Angelo Poletti, Prof.ssa Valeria Crippa Prof. Riccardo Cristofani Università degli Studi di Milano Dipartimento di Scienze Farmacologiche Biomolecolari, CEND,

Dott. Francesco Bifari Dipartimento di Biotecnologie Mediche e Medicina Traslazionale, niversità degli Studi di Milano

Dott. Marco Feligioni Centro EBRI, Roma

Prof. Adriano Chiò, Prof. Andrea Calvo Università degli Studi di Torino

Dott.ssa Roberta Ghidoni, Dott.ssa Luisa Benussi IRCCS Centro San Giovanni di Dio Fatebenefratelli, Brescia

## **RAPPORTI DI COLLABORAZIONE INTERNAZIONALI**

Prof. John Landers University of Massachussetts 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 Università di Ulm, Germania Dipartimento di Neurologia

Prof. Markus Otto Dipartimento di Neurologia, Università Martin Luther di Halle-Wittenberg, Halle (Saale), Germania.

Prof. Ammar Al-Chalabi Prof. Christopher Shaw King's College, London Dipartimento di Neurologia

Prof. Leonard Petrucelli Mayo Clinic, Florida, USA Department of Neurology

Prof. Markus Weber Dipartimento di Neurologia Università di St. Gallen, Svizzera

Dott. Damian Wollny Max Planck Institute, Leipzig, Germania

Prof. 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 CRC Centro "Dino Ferrari" dal 2002, anno di fondazione della UO di Neurologia in Auxologico: il Dipartimento annovera oggi oltre la UO di Neurologia anche quella di Neurofisiopatologia diretta dal Dott. Luca Maderna. Il Dipartimento ha prodotto nel 2024 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 neurodegenerative per lungo tempo considerate difficilmente curabili. 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 raccolta di biomarcatori per precoce diagnosi ed elaborazione di innovative strategie terapeutiche. E' continuata infatti la crescita del Centro Trial Clinici che si è avviato a sviluppare approcci di terapia genica con antisense, preparandosi a somministrare anticorpi monoclonali in diverse patologie neurodegenerative.

Nel 2024 è stato programmato il Centro Brain Health volto alla diagnosi precoce delle demenze con stretta interazione con l'Università di Ginevra ed il contributo del Prof. Stefano Cappa, divenuto Consulente in Auxologico.

La nuova sede delle attività cliniche in Mosè Bianchi offre con il suo progressivo sviluppo una locazione agile ed elegante non solo per degenza ed ambulatori nell'ambito del Servizio Sanitario Nazionale ma anche con spazio dedicato alla solvenza.

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 dirige dal 2017 il 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 poi designato dal Febbraio 2023 a dirigere nell'ERN-NMD l'area relativa alle patologie del motoneurone (SLA). Coordina inoltre dal 2023 nell'ambito della RIN (Rete delle Neuroscienze e della Neuroriabilitazione) l'Istituto Virtuale Malattie del Motoneurone (IVN-MMN) con la partecipazione di 13 IRCCS: l'Istituto Virtuale si è concentrato sulla patologia legata al gene *C9orf72*, il più frequente per le forme sporadiche e familiari non solo di SLA ma anche di FTD.

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 2024 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 2024 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 fornisce 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 post COVID-19. 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 in risonanza 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, sotto la responsabilità della Prof.ssa Antonia Ratti. In particolare il Centro dispone di piattaforme Illumina di sequenziamento NGS e 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 degli studi di associazione genica "genome-wide" (GWAS) per la definizione di geni di suscettibilità nella SLA sporadica con l'importante contributo del Consorzio SLAGEN ed ora dell'IVN-MMN 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 NGS completo per le malattie del motoneurone (SLA), le Demenze (FTD e la Malattia di Alzheimer) e per i disturbi extrapiramidali (Malattia Parkinson). Le forme genetiche da espansione di microsatelliti come SLA/FTD legate al gene *C9orf72* vengono separatamente analizzate mediante Repeat-primed PCR. Relativamente alla SLA/FTD, lo studio dell'esoma di un numero rilevante di pazienti 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 la tecnologia SIMOA (Quanterix) che viene utilizzata per la definizione dei valori sierici/liquorali del neurofilamento e di nuovi biomarcatori come GFAP e TAU nella SLA/FTD.

La migliore espressione dell'attività svolta dalla Sede Distaccata del Centro "Dino Ferrari" sta nell'ulteriore consenso internazionale raggiunto nel 2024 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). Un project manager è stato definito per la conduzione dell'IVN-MMN e per la gestione dell'ERN.

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 2024 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 ed ha ricevuto riconoscimento dalla Società Italiana di

Neurologia (SIN) per gli oltre 40 anni di contributi tra cui l'organizzazione del Congresso SIN a Milano nel 2022.

## PRINCIPALI ARGOMENTI DI RICERCA

### *META-ANALISI DEI LIVELLI LIQUORALI ED EMATICI DELLA CATENA LEGGERA DEL NEUROFILAMENTO (NFL) NELLA SCLEROSI LATERALE AMIOTROFICA E NELLA DEMENZA FRONTOTEMPORALE*

E' noto che i livelli liquorali ed ematici della catena leggera del neurofilamento sono aumentati nella SLA e, in misura minore, nella FTD. Abbiamo concluso una meta-analisi dei livelli di NFL nella SLA e nella FTD: abbiamo valutato gli studi disponibili che confrontano i livelli di NFL nel liquor e nel sangue nella SLA rispetto ai controlli neurologicamente sani (NHC), ad altre malattie neurologiche (OND) e a condizioni che "mimano" la SLA ("ALS mimics"), così come nella FTD e nelle entità correlate (variante comportamentale della FTD e sindromi di degenerazione lobare frontotemporale) rispetto a NHC, OND e altre demenze. Nella SLA, sia i livelli liquorali sia quelli ematici sono più alti rispetto ad altre categorie. Nella FTD, nella variante comportamentale della FTD e nelle sindromi da degenerazione lobare frontotemporale, i livelli di NFL sono costantemente più alti rispetto ai NHC; tuttavia, diversi confronti con OND e altre demenze non hanno dimostrato differenze significative. In conclusione, la meta-analisi conferma che la SLA è caratterizzata da livelli di NFL più elevati rispetto alla maggior parte delle altre condizioni; al contrario, NFL non è altrettanto efficace nel discriminare la FTD dalle altre demenze.

### *ASSOCIAZIONE DEI FATTORI DI RISCHIO VASCOLARE E DELLA PATOLOGIA CEREBROVASCOLARE CON INDICI DI PATOLOGIA ALZHEIMER IN INDIVIDUI SENZA DEMENZA*

I fattori di rischio vascolare (VRF) e la malattia dei piccoli vasi cerebrali (cSVD) sono comuni nei pazienti con malattia di Alzheimer (AD). Non è chiaro se questa coesistenza rifletta fattori di rischio condivisi o una relazione meccanicistica e se le patologie vascolari e amiloidi abbiano un'influenza indipendente o sinergica sulla successiva fisiopatologia dell'AD nelle fasi precliniche. In questo studio multicentrico guidato dai colleghi dell'Università di Amsterdam abbiamo studiato i collegamenti tra VRF, cSVD e livelli liquorali di amiloide (A $\beta$ 42) e il loro effetto combinato sugli altri biomarcatori dell'AD, ovvero tau iperfosforilata nel liquido cerebrospinale (P-tau181), atrofia e cognitiv . Questo studio retrospettivo ha incluso partecipanti non affetti da demenza (Clinical Dementia Rating < 1) della coorte European Prevention of Alzheimer's Dementia (EPAD) e ha valutato i VRF con il punteggio di rischio di Framingham (FRS) e le caratteristiche di cSVD nella risonanza magnetica encefalica utilizzando scale visive e volumi di iperintensit  della sostanza bianca.   stata valutata una coorte totale di 1.592 partecipanti (et  media = 65,5  $\pm$  7,4 anni; 56,16% F). Abbiamo osservato associazioni positive tra FRS e tutte le caratteristiche della cSVD e un'associazione negativa tra FRS e A $\beta$ 42. Tutte le caratteristiche della cSVD erano negativamente associate all'A $\beta$ 42 del liquido cerebrospinale. Utilizzando il SEM, la gravit  della cSVD risultava mediare l'associazione tra FRS e A $\beta$ 42 liquorale. Abbiamo osservato un significativo effetto indiretto della gravit  della cSVD su P-tau181, volume basale e longitudinale della sostanza grigia e prestazione cognitiva basale attraverso i livelli liquorali A $\beta$ 42. I risultati suggeriscono che la cSVD   un mediatore della relazione tra VRF e A $\beta$ 42 liquorale e influisce sulla neurodegenerazione e sul deterioramento cognitivo; i VRF influenzano indirettamente la patogenesi dell'AD.

### *STUDIO DEI LIVELLI LIQUORALI DI NFL, CHIT1 E MIR-181B COME BIOMARCATORI DIAGNOSTICI E PROGNOSTICI DELLA SLA*

In questo studio multicentrico condotto insieme ai colleghi dell'IRCCS Fondazione Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico di Milano e dell'Universit  di Lovanio (Belgio) abbiamo studiato i livelli della catena leggera dei neurofilamenti (NFL), della chitotriosidasi (CHIT1) e del microRNA-181b (miR-181b) nel liquido cerebrospinale (CSF) di soggetti con SLA (N = 210) e di soggetti di

controllo neurologicamente sani e affetti da malattie neurologiche (N = 218, inclusi N = 74 con altre malattie neurodegenerative), valutandone l'utilità specifica o combinata come biomarcatori diagnostici e prognostici. NfL, CHIT1 e miR-181b hanno tutti mostrato livelli significativamente più elevati nei soggetti con SLA rispetto ai controlli; NfL ha mostrato la prestazione diagnostica più efficace. Tutti e tre i biomarcatori sono aumentati rispetto ai controlli con altre malattie neurodegenerative e, in particolare, rispetto ai pazienti con malattia di Alzheimer (AD; N = 44); NfL e CHIT1 sono più elevati nella SLA rispetto alle alfa-sinucleinopatie (N = 22). I pazienti affetti da SLA hanno mostrato livelli aumentati di CHIT1 nonostante, rispetto ai controlli, presentassero una maggiore prevalenza di un polimorfismo genico che riduce l'espressione di CHIT1. Mentre non è stata trovata alcuna relazione tra miR-181b nel liquido cerebrospinale e parametri clinici nella SLA (durata della malattia, disabilità funzionale e tasso di progressione della malattia), NfL nel liquido cerebrospinale è risultato il miglior predittore indipendente della progressione della malattia e della sopravvivenza. Questo studio approfondisce la nostra conoscenza dei biomarcatori della SLA, evidenziando la relativa specificità di CHIT1 per la SLA tra le malattie neurodegenerative e valutando la potenziale utilità diagnostica del miR-181b nel liquido cerebrospinale.

#### *MODELLING DELLA DIFFUSIONE DELLA PATOLOGIA ATTRAVERSO IL CONNETTOMA STRUTTURALE NELLO SPETTRO CLINICO DELLA DEMENZA FRONTOTEMPORALE*

La capacità di prevedere la diffusione della patologia nei pazienti con FTD è fondamentale per una diagnosi precoce e interventi mirati. Questo studio multicentrico guidato dai colleghi dell'IRCCS Ospedale San Raffaele ha esaminato la relazione tra vulnerabilità della rete e progressione dell'atrofia longitudinale nei pazienti con FTD, utilizzando il modello di diffusione della patologia (NDM). 30 pazienti con FTD variante comportamentale (bvFTD), 13 con afasia progressiva primaria variante semantica (svPPA), 14 con PPA variante non fluente (nfvPPA) e 12 con FTD variante comportamentale semantica (sbvFTD) sono stati sottoposti a risonanza magnetica longitudinale pesata in T1. Cinquanta giovani soggetti di controllo (YC) (20-31 anni) sono stati sottoposti a risonanza magnetica a diffusione multistrato. Utilizzando il NDM, le mappe predittive nei YC hanno mostrato la progressione della patologia dai picchi di atrofia in svPPA, nfvPPA e sbvFTD nell'arco di 24 mesi. La svPPA ha mostrato un coinvolgimento precoce dei lobi temporali e occipitali sinistri, con progressione verso un'estesa compromissione dell'emisfero sinistro. Analogamente, la nfvPPA e la sbvFTD si diffondono bilateralmente alle regioni frontale, sensomotoria e temporale, mentre la sbvFTD colpisce anche l'emisfero destro. Inoltre, l'atrofia prevista dal NDM di ciascuna regione è correlata positivamente all'atrofia reale longitudinale, con un effetto maggiore in svPPA e sbvFTD. Nella bvFTD, il modello che parte dall'insula sinistra (il picco di atrofia) ha dimostrato un quadro fortemente lateralizzato a sinistra, con patologia che si diffonde alle regioni frontale, sensomotoria, temporale e dei nuclei della base, con un'estensione minima all'emisfero controlaterale entro 24 mesi. Tuttavia, a differenza dei picchi di atrofia osservati negli altri tre fenotipi, l'insula sinistra non ha mostrato la correlazione più forte tra l'atrofia stimata e quella effettiva. Al contrario, il giro frontale superiore bilaterale è emerso come sede ottimale per la modellazione della diffusione dell'atrofia, mostrando il più alto grado di correlazione in entrambi gli emisferi. Lo studio mostra che l'implementazione del NDM mediante il connettoma strutturale trasversale è uno strumento prezioso per prevedere i modelli di atrofia e la diffusione della patologia nelle varianti cliniche della FTD.

#### *CASE REPORTS NEUROLOGICI*

Segnaliamo due case report derivanti da pazienti che sono stati seguiti nella nostra UO.

Il primo è quello di un caso di amiotrofia bibrachiale associata a siderosi superficiale sottotentoriale che mimava una malattia del motoneurone. Nel dettaglio, un uomo di 53 anni si è presentato con una storia di 7 anni di amiotrofia bibrachiale asimmetrica lentamente progressiva. Inizialmente è stata fatta la diagnosi di malattia atipica del motoneurone (MND). Alla rivalutazione, avvenuta 11 anni dopo, l'atrofia e la debolezza degli arti superiori erano ulteriormente peggiorate e si accompagnavano a sordità neurosensoriale. La risonanza magnetica dell'encefalo e della colonna vertebrale ha evidenziato un'estesa siderosi superficiale (SS) sopra- e sottotentoriale (inclusa la superficie



dell'intero midollo spinale), nonché una raccolta di liquido intraspinale longitudinale ventrale (VLISFC) che si estendeva lungo quasi tutta la colonna toracica. Sono state osservate alterazioni osteodegenerative a livello C5-C7, con osteofiti sporgenti posteriormente. Abbiamo ipotizzato che gli speroni ossei a livello C6-C7 avessero lesionato la dura madre, causando una perdita di liquido cerebrospinale e quindi una VLISFC. 19 anni dopo l'insorgenza della debolezza degli arti superiori, il paziente ha sviluppato anche un parkinsonismo compatibile con la diagnosi di malattia di Parkinson idiopatica (MP). Sulla base del follow-up a lungo termine, abbiamo potuto stabilire che, mentre l'evidenza della VLISFC era concomitante alla presentazione clinica dell'amiotrofia e della debolezza degli arti superiori, i segni radiologici della SS sono comparsi più tardi. Ciò suggerisce che la SS non era di per sé la causa del quadro clinico simile alla SLA, ma piuttosto una conseguenza a lungo termine di una perdita durale. Quest'ultima era invece la lesione causale, dando origine a una VLISFC che comprimeva le radici motorie cervicali.

Il secondo case report riguarda invece un paziente con encefalite da anticorpi anti-IgLON5. Un uomo di 68 anni affetto da diabete di tipo 2 è stato valutato per una storia di 8 mesi di disturbo progressivo dell'andatura che causava frequenti cadute. Soffriva anche di apnee notturne ostruttive e lamentava disfonia, disartria, occasionale disfagia, incontinenza urinaria e tremore degli arti superiori. L'esame neurologico ha dimostrato ptosi palpebrale bilaterale, limitazione dei movimenti oculari di inseguimento orizzontale lento, saccadi orizzontali lenti e mancanza di inibizione del riflesso vestibolo-oculare durante rapide torsioni orizzontali della testa. Il paziente presentava inoltre movimenti involontari, lenti e ritmici dei muscoli periorbitali e periorali di sinistra, che si diffondevano all'emipalato ipsilaterale e all'emilingua, insieme a mioclono negativo bilaterale degli arti superiori. Si riscontrava atrofia muscolare prossimale negli arti superiori, debolezza prossimale dei quattro arti e fascicolazioni diffuse. Si è notata atassia della stazione eretta, dell'andatura e dei quattro arti. La risonanza magnetica del cervello e della colonna vertebrale non ha dato risultati degni di nota; gli studi sulla conduzione nervosa hanno rivelato una polineuropatia sensitivo-motoria cronica, prevalentemente demielinizzante, probabilmente dovuta al diabete. L'esame di routine del liquido cerebrospinale non ha dato risultati rilevanti; tuttavia, i test di autoimmunità hanno rivelato un'elevata positività per gli autoanticorpi anti-IgLON5 sia nel liquido cerebrospinale che nel siero, portando alla diagnosi di malattia anti-IgLON5. I sintomi sono migliorati significativamente dopo la somministrazione endovenosa di metilprednisolone. La complessa semiologia del nostro paziente potrebbe riflettere un targeting multifocale del processo autoimmune o la diffusione sequenziale delle inclusioni di tau in diverse aree cerebrali. La risposta ottimale del paziente alla monoterapia con glucocorticoidi potrebbe essere supportata da un fenotipo leggermente diverso in cui l'autoimmunità svolge un ruolo patogeno maggiore rispetto alla taupatia.

*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 di tipo LOF, 2.0% varianti di incerto significato-VUS). 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* (lavoro sottomesso a rivista). 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.

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 della condizione di oligogenicità. Studi funzionali nei motoneuroni differenziati da tali iPSC hanno mostrato che la risposta al danno al DNA indotto con un agente radiomimetico (Neocarzinostatina) 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, organello che regola molti processi cellulari tra cui l'autofagia, è disregolato nei motoneuroni *NEK1/C9orf72*, mostrando una lunghezza significativamente minore rispetto a quello dei motoneuroni da controllo sano, ma simile a quello dei motoneuroni mutati solo *C9orf72*, senza apparente effetto sinergico della doppia mutazione. Tali dati indicano che la condizione di oligogenicità può essere studiata mediante modelli iPSC da paziente per valutare funzionalmente gli effetti su vari parametri biologici (dati pubblicati in Santangelo et al, HMG 2024). Sono attualmente in corso studi funzionali simili anche in linee iPSC derivate da pazienti con mutazioni di tipo LOF nel gene *NEK1* per valutare l'effetto della condizione di aploinsufficienza della proteina sulla risposta al danno al DNA e sulla funzionalità del ciglio, nonché sul trasporto assonale dei mitocondri.

*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 autozigosità al fine di individuare le regioni genomiche identiche per discendenza (IBD). Le regioni di autozigosità 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 autozigosità precedentemente individuate. L'analisi delle varianti recessive presenti nelle regioni di autozigosità 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 sono stati effettuati studi di validazione di tali geni candidati su altre coorti indipendenti e sono state condotte analisi di biologia molecolare e cellulare al fine di caratterizzare dal punto di vista funzionale la mutazione loss-of-function individuata nella nostra coorte.

*CARATTERIZZAZIONE GENETICA DEI PAZIENTI AFFETTI DA SCLEROSI LATERALE AMIOTROFICA (SLA)*

Nel corso del 2024 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. Tali studi hanno portato alla stesura di due lavori di cui uno pubblicato su *Brain Commun* e un secondo attualmente in revisione su *Ann Clin Transl Neurol*. E' in corso la valutazione del ruolo di polimorfismi associati a parkinsonismi atipici (paralisi sopranucleare progressiva, degenerazione corticobasale) nella patogenesi della SLA. Infine, nel 2024 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 2024 sono stati condotti diversi studi di deep-phenotyping nei pazienti affetti da SLA seguiti presso l'Istituto Auxologico Italiano IRCCS. Tale studi, integrando dati clinici, neurofisiologici e neuropsicologici, hanno portato alla determinazione del ruolo della creatinina come biomarcatore associato alla progressione di malattia e al fenotipo clinico nella SLA (Gentile et al., *J Neurol* 2024). E' stata inoltre dimostrata un'associazione tra genotipo APOE, livelli liquorali di beta-amiloide e alterazioni cognitive nella SLA (Maranzano et al., *Eur J Neurol* 2024). Durante il 2024 è stato inoltre proseguito lo sviluppo del 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 (Maranzano et al., *Brain* 2023). Tale database sarà sfruttato nel corso degli anni successivi 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*

*(PI: Dott.ssa Patrizia Bossolasco e Prof.ssa Antonia Ratti)*

Grazie all'ampia casistica di pazienti SLA caratterizzati clinicamente e dal punto di vista genetico, il laboratorio ha generato molte linee iPSC mediante riprogrammazione di fibroblasti o cellule mononucleate da sangue (PBMC) di portatori di mutazioni in diversi geni causativi di SLA (*C9orf72*, *TARDBP*, *KIF5A*). Tali linee vengono utilizzate per diversi progetti di ricerca attualmente in corso nel laboratorio di Neuroscienze e in collaborazioni con altri Istituti. In particolare la linea iPSC precedentemente generata da paziente con Paraparesi spastica (SPG10) con una nuova mutazione nel dominio N-terminale di *KIF5A* (Santangelo et al, *HMG* 2023) è stata utilizzata per ottenere motoneuroni e studiare a livello funzionale l'effetto di tale variante sul trasporto assonale dei mitocondri e dei lisosomi. I dati indicano un ridotto trasporto assonale in presenza della mutazione nel dominio motorio, come atteso, similmente a motoneuroni in cui abbiamo ridotto l'espressione di *KIF5A* mediante gene editing con CRISPR/Cas9 (lavoro in preparazione).

Una seconda linea di investigazione ha riguardato lo sviluppo di cellule microgliali da iPSC. Infatti, sebbene i motoneuroni siano il tipo cellulare maggiormente affetto nella SLA, 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 di questa malattia. A tale scopo, nel 2024, è stato messo a punto un protocollo di differenziamento di iPSCs in cellule microgliali. Tali cellule hanno mostrato positività al 100% per TMEM-119 e TREM-2, due marcatori specifici di microglia non attivati, e circa 20-30% di positività per IBA-1, Vimentina e 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. E' inoltre in corso la quantificazione di goccioline lipidiche all'interno delle cellule microgliali, parametro correlato allo stato infiammatorio, paragonando il numero e la dimensione di queste goccioline nella microglia sana vs microglia malata. Allo stesso modo si sta valutando la loro capacità di fagocitare particelle esogene ed aggregati proteici in vitro, mediante l'utilizzo di biglie fluorescenti che consentono di mimare la condizione in vivo. Lo stato infiammatorio della microglia sana e malata è inoltre allo studio sia in condizioni basali che

successivamente a stimolazione con LPS o ad un cocktail di INFgamma e TNFalpha, valutando in particolare mediante ELISA il rilascio di IL-1beta, TNFalpha, e IL-6 nel medium di coltura.

Nel corso del 2024, nell'ambito dell'utilizzo di modelli 3D per lo studio *in vitro* della SLA, 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 sono risultati esprimere al 100% due marcatori specificatamente motoneuronali quali la Choline Acetyltransferase (ChAT) e la Homeobox protein (HB9) e si sono, quindi, dimostrati essere un buon modello di studio per patologie correlate al motoneurone. Gli organoidi MNs messi a punto nel 2024 sono attualmente oggetto di progetti di ricerca, in particolare vengono differenziati da iPSCs di pazienti e controlli sani e ne viene valutato il branching assonale e dendritico in condizioni basali e in seguito a trattamento con agenti che inducono stress ossidativo (Arsenite). Questi organoidi verranno quindi coltivati insieme a microglia derivante da iPSCs di pazienti e controlli sani allo scopo di verificare le potenzialità di riparazione dei danni dendritici da parte della microglia sana o malata.

Organoidi cerebrali da iPSC sono al momento allo studio anche in collaborazione con il Laboratorio di Endocrinologia dell'Istituto (Prof. Persani) in quanto è stata osservata una diversa espressione di un particolare recettore negli organoidi derivanti da controlli sani vs organoidi derivati da pazienti SLA e ciò potrebbe rappresentare un nuovo biomarcatore. In previsione, gli stessi esperimenti verranno condotti anche su organoidi spinali.

*MECCANISMI PATOGENICI DI SLA: RISPOSTA ALLO STRESS OSSIDATIVO IN FIBROBLASTI E IN MODELLI 2D e 3D 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 modelli di malattia 2D, quali motoneuroni (iPSC-MN), e 3D, quali organoidi cerebrali. Abbiamo dimostrato che il trattamento con arsenite cronica e a bassa concentrazione ha indotto una condizione patologica di TDP-43-proteinopatia in cui sono presenti sia meccanismi di *gain-of-function* (TDP-43 mislocalizzata e aggregata nel citoplasma) che di *loss-of-function* (perdita dell'attività nucleare di splicing di TDP-43). 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. Solo la Rapamicina ha mostrato efficacia nel recuperare la mislocalizzazione citoplasmatica di TDP-43 e la sua attività di splicing su geni target selezionati (*POLDIP3* e *UNC13A*) sia in fibroblasti che iPSC-MN da pazienti SLA con mutazione del gene *C9ORF72*. Anche in modelli *in vitro* 3D più complessi, quali gli organoidi cerebrali differenziati da iPSC (iPSC-organoids) ed esposti ad Arsenite, abbiamo confermato che la Rapamicina è in grado di recuperare parzialmente l'attività nucleare di splicing di TDP-43 per il target neuronale *UNC13A*. I dati ottenuti sono stati pubblicati (Casiraghi et al, Exp Neurol 2025).

Come insulto citotossico sui motoneuroni derivati da iPSC abbiamo anche valutato il possibile effetto di CSF di pazienti SLA nell'indurre degenerazione neuronale. Sono stati selezionati CSF di pazienti SLA stratificati secondo il loro genotipo per il fattore di rischio *UNC13A* (omozigoti per l'allele maggiore AA e minore CC) e per l'espansione del gene *C9orf72* così come CSF da controlli senza malattie neurodegenerative. Per garantire un'alta riproducibilità nei differenziamenti motoneuronali, sono state utilizzate i<sup>3</sup>-iPSC wild-type, ossia linee geneticamente modificate ed inducibili per l'espressione della cassetta NIL che permette, mediante attivazione con Doxyciclina, il differenziamento motoneuronale in solo 20 giorni.. Come controllo positivo d'insulto ossidativo abbiamo usato Arsenite come descritto negli esperimenti sopra per un totale di 5 replicati

biologici/condizione sperimentale. In questi i<sup>3</sup>-MN esposti a CSF per 48 ore abbiamo valutato vari parametri biologici, quali la vitalità, la formazione di aggregati proteici (Proteostat), l'accumulo di P62 legata all'autofagia, la degenerazione neuritica, il danno al DNA e l'integrità dell'apparato di Golgi. I nostri dati indicano che il CSF da pazienti col fattore di rischio *UNC13A* CC è in grado di indurre una maggiore aggregazione proteica e una maggior frammentazione del Golgi rispetto agli altri liquor, dimostrando un effetto citotossico specifico legato al genotipo. L'analisi di RNA-seq non ha invece mostrato grossi cambiamenti di espressione genica nei i<sup>3</sup>-MN in seguito all'esposizione a CSF nelle nostre condizioni sperimentali. Tali dati sono stati sottomessi a rivista ed attualmente in revisione.

#### *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 2024 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 della degenerazione lobare frontotemporale e della sclerosi laterale amiotrofica all'interno del cervello tramite l'analisi del "connectome" cerebrale. Le metodiche di 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 fisiopatologia delle malattie neurodegenerative e di rivelare i profili di connettività associati ad 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 ha come obiettivi: 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 FTLT 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, bvFTD; variante semantica di afasia primaria progressiva, svPPA; variante non fluente di afasia primaria progressiva, nfvPPA). 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 3 Tesla comprensivo di sequenze pesate in diffusione, RM funzionale a riposo e RM strutturale.

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

Nel corso del 2024 si è concluso il progetto di ricerca corrente dal titolo "Studio dei depositi di ferro nella corteccia motoria di pazienti affetti da SLA 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 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 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 2024 è stato pubblicato il lavoro in *Front Neurol* 2024 in collaborazione con la Neuroradiologia dell'Ospedale Policlinico di Milano.

#### AVANZAMENTI IN MATERIA DI VALUTAZIONE COGNITIVA NELLA MALATTIA DI PARKINSON

Anche nell'anno 2024, il Centro si è visto coinvolto, sia in qualità di capofila che in qualità di collaboratore principale, nella pubblicazione di articoli approfondenti il tema delle proprietà clinimetriche e dell'utilizzabilità clinica di alcuni strumenti di valutazione cognitiva in pazienti (pz.) con malattia di Parkinson (MdP). Nella fattispecie, due articoli si sono focalizzati sullo studio del test di screening Montreal Cognitive Assessment (MoCA) in pz. con MdP (Aiello et al., *Neurodegener Dis*; Aiello et al., *BMC Neurol.*), fornendo informazioni clinimetriche e di utilizzabilità che vanno ad aggiungersi. Il primo studio ha dimostrato come il MoCA fosse significativamente associato ad una misura malattia-specifica di indipendenza funzionale, dimostrandone pertanto la validità ecologica, mentre il secondo si è focalizzato sulla derivazione di soglie per definire i cambiamenti clinicamente significativi nelle funzioni cognitive. Un ulteriore articolo (Aiello et al., *Neurol. Sci.* 2024) ha indagato le proprietà psicometriche e diagnostiche di una batteria di fluenza verbale fonemica, semantica ed alternata, dimostrando, in particolare, l'utilità clinica del test di fluenza verbale alternata nella detezione di compromissione cognitiva lieve nei pz. con MdP.

#### COLLABORAZIONI IN MATERIA DI STIMOLAZIONE CEREBRALE NELLA MALATTIA DI PARKINSON

Sempre nell'ambito della MdP, il Centro ha contribuito alla pubblicazione di due articoli concernenti il macro-tema della stimolazione cerebrale in tale popolazione. Nel primo, è stato indagata l'associazione tra la *total electric delivered energy* (TEED) in pz. con MdP sottoposti a stimolazione cerebrale profonda rivolta al nucleo subtalamico e i cambiamenti post-intervento ai compiti di fluenza fonemica, semantica ed alternata – considerati indicatori sensibili al declino cognitivo post-operatorio (Ruggiero et al., *CNS Spectrums*); tale studio ha rivelato un'associazione sostanzialmente trascurabile tra la TEED e il declino delle prestazioni di fluenza verbale nella coorte di studio, suggerendo come tale indicatore non rientri tra i fattori peri-operatori sottesi al deterioramento delle funzioni cognitive nei pz. con MdP sottoposti a tale trattamento chirurgico. Un secondo studio, di natura interventistica, ha permesso di verificare l'efficacia di un protocollo riabilitativo specifico per la MdP e, in particolare, per la gestione del *freezing of gait*, tramite la combinazione della realtà virtuale aumentata e della stimolazione magnetica transcranica sul cervelletto (Pisano et al., *J. NeuroEngineer. and Rehabil.*). Tale ricerca ha dimostrato che un approccio riabilitativo integrato può migliorare il controllo motorio in pz. con MdP, in quanto i partecipanti mostravano una miglior stabilità posturale.

#### AVANZAMENTI IN MATERIA DI SEMEIOLOGICA E DIAGNOSTICA NEUROPSICOLOGICA NELLA SCLEROSI LATERALE AMIOTROFICA

Nel corso dell'anno 2024, il Centro ha proseguito la sua intensa attività di ricerca concernente l'ambito della semeiotica e della diagnostica neuropsicologiche nei pz. con SLA.

Un primo studio ha analizzato la validità ecologica dei test cognitivi di screening *Edinburgh Cognitive and Behavioural ALS Screen* (ECAS) e *ALS Cognitive Behavioral Screen* (ALS-CBS™) nel riflettere il funzionamento cognitivo quotidiano in questa popolazione di pazienti. Sono stati coinvolti 147 pazienti e i loro *caregiver* (Aiello et al., *Neurol. Sci.*). Lo studio dimostra che ECAS e ALS-CBS™ non solo sono strumenti validi per valutare la cognizione nei pz. in ambito clinico, ma rappresentano anche una valida stima dello stato cognitivo degli stessi nel quotidiano. Inoltre, sottolinea l'importanza del contributo dei *caregiver* per comprendere il reale impatto quotidiano dei deficit cognitivi. Sempre in merito ai test cognitivi di primo livello, un ulteriore studio si è proposto

di valutare l'utilizzabilità clinica longitudinale del *Montreal Cognitive Assessment* (MoCA) in una coorte italiana di 39 pazienti SLA (Aiello *et al.*, *Eur. Neurol.*). Pur essendovi a disposizione test SLA-specifici come l'ECAS, il MoCA, test SLA-non specifico, potrebbe rivelarsi utile in contesti assistenziali non specializzati o in situazioni in cui gli operatori non hanno familiarità con gli *screeners* specifici per la patologia. Dai risultati emerge come il MoCA risulta essere uno strumento fattibile per la valutazione longitudinale del funzionamento cognitivo a 5-10 mesi, a condizione che le disabilità motorie non ne compromettano la somministrazione; ulteriore merito di tale indagine risiede inoltre nell'aver fornito soglie per la rilevazione di cambiamenti clinicamente significativi (*reliable change index*) ai punteggi al MoCA in questa popolazione.

Circa invece i test cognitivi di secondo livello (o dominio-/funzione-specifici), un'indagine (Aiello *et al.*, *Neurol. Sci.*) ha avuto come scopo quello di analizzare l'utilità clinica del *Verbal Fluency Index* (VFI), rispetto al classico test di fluenza verbale fonemica, in una coorte italiana di 343 pazienti SLA e 226 controlli. I risultati supportano l'uso del VFI come strumento valido per valutare lo stato esecutivo nei pazienti, in quanto riduce l'effetto delle limitazioni motorie che possono compromettere la velocità di eloquio, migliorando così l'accuratezza della valutazione cognitiva. In merito a tale tema, il Centro ha inoltre collaborato con l'IRCCS San Raffaele ad un'indagine volta ad investigare la fattibilità clinica dei subtest relativi al riconoscimento delle emozioni contenuti nella versione abbreviata della *Comprehensive Affect Testing System* (CATS-A) in una popolazione italiana di 96 pazienti SLA e 116 controlli (Castelnovo *et al.*, *J. Neurol.*). Lo studio ha permesso di stabilire la solidità clinimetrica del CATS-A, fornendone inoltre cut-off malattia-specifici per l'identificazione di un coinvolgimento frontotemporale tramite questo strumento, e validandone i risultati anche a livello neuroradiologico – essendosi rilevate differenze volumetriche di materia grigia, come valutato alla RM, in regioni cerebrali correlate al riconoscimento delle emozioni.

Circa invece le manifestazioni neuropsicologiche in senso lato, un'ulteriore indagine si è concentrata sul ruolo del coinvolgimento cerebellare nei sintomi cognitivi e comportamentali dei pz. con SLA (Aiello *et al.*, *Front. Neurol.*). L'innovazione principale dello studio è l'impiego di algoritmi di *Quantitative Susceptibility Mapping* (QSM). Questi algoritmi, basati su scansioni di risonanza magnetica (MRI), permettono di stimare l'accumulo di ferro nel cervello – un parametro che potrebbe essere associato a processi neurodegenerativi. Mentre le tecniche di neuroimmagine tradizionali si concentrano su misure volumetriche o funzionali, il QSM offre un biomarcatore potenzialmente sensibile nella rilevazione di alterazioni lievi che possano verosimilmente precedere l'atrofia dei tessuti. L'obiettivo principale è stato pertanto quello di valutare se le misure cerebellari ottenute tramite QSM possano associarsi alle le caratteristiche cognitive e comportamentali in pazienti SLA, confrontandole con le misure volumetriche standard derivate da RM. Sono stati reclutati 61 pazienti. I risultati suggeriscono che l'accumulo di ferro nella materia grigia del cervelletto, in particolare nelle cortecce cerebellari, potrebbe essere associato a deficit nelle funzioni esecutive. Pertanto, le misure basate sul QSM potrebbero rappresentare uno strumento utile per identificare i correlati neurali dei deficit cognitivi extra-motori. Un ulteriore studio di semeiotica neuropsicologica si è poi proposto di esaminare i correlati neuropsicologici dell'alessitimia e la sua interazione con gli esiti motorio-funzionali in una coorte di 68 pazienti SLA (Faltracco *et al.*, *Neurological Science*). Dai risultati si conclude che tratti di Alessitimia di rilevanza clinica si riscontrano solo in una minoranza dei pazienti e i loro correlati neuropsicologici sono simili a quelli osservati nei controlli. Ciò suggerisce che l'alessitimia non rappresenta una caratteristica specifica dello spettro frontotemporale nella SLA, ma potrebbe essere espressione di fattori psicogeni in risposta alla malattia. Un ultimo studio di tale natura si è poi proposto di indagare se la riserva cognitiva possa modulare la relazione tra il coinvolgimento motorio e le funzioni cognitive e comportamentali nei pazienti SLA (Aiello *et al.*, *Eur. J. Neurol.*). L'indagine, che ha incluso i dati retrospettivi di 726 pz. proveniente da tre centri del Nord Italia (IRCCS Istituto Auxologico Italiano; Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta; CRESLA, Dipartimento di Neuroscienze “Rita Levi Montalcini”, Università degli Studi di Torino), suggerisce che l'istruzione, come indicatore della riserva cognitiva, modula la relazione tra il coinvolgimento motorio e le funzioni esecutive, esercitando così un ruolo protettivo sia sullo stato

motorio che su quello cognitivo. Tali risultati appaiono pertanto rilevanti nei confronti dell'implementazione di potenziali strategie di prevenzione primaria focalizzanti sulla riserva cognitiva come fattore di protezione multi-dimensionale nei riguardi di questa patologia.

Una menzione a sé stante merita infine l'indagine epidemiologica sui disturbi dello spettro frontotemporale nata dalla collaborazione dei tre suddetti centri del Nord Italia (Poletti *et al.*, *J. Neurol.*). Lo studio, che ha incluso 808 pz. SLA senza demenza frontotemporale valutati tramite le sezioni cognitive e comportamentale dell'ECAS, ha permesso di derivare stime generalizzabili dei deficit cognitivi e delle alterazioni comportamentali in questa patologia, dimostrando come, considerando cumulativamente disfunzioni di entrambi questi domini, la percentuale di pz. affetti si attesta a più del 50%. Inoltre, questo studio ha permesso di confermare come un più grave ed avanzato coinvolgimento motorio possa associarsi ad alterazioni neuropsicologiche – e, più significativamente, comportamentali – nella SLA.

#### *DECLINO COGNITIVO SOGGETTIVO E DEFICIT MNESICI ISOLATI LENTAMENTE PROGRESSIVI*

La definizione di declino cognitivo soggettivo (DCS) dipende dalla presenza di disturbi soggettivi e di prestazioni oggettive compromesse nei test di memoria. Anche la definizione clinica della sindrome neurodegenerativa amnestica a predominanza limbica (LANS), recentemente descritta, si basa essenzialmente sulla presenza di una sindrome amnestica a lenta evoluzione. La scelta del test di memoria da utilizzare in questa popolazione è estremamente importante per una serie di motivi. L'accuratezza diagnostica dei test attualmente utilizzati è elevata per la differenziazione della demenza dai controlli normali, ma notevolmente inferiore per la distinzione MCI/controllo. Anche la presenza di un trade-off tra sensibilità e specificità è rilevante, in quanto influisce, ad esempio, sul valore predittivo di progressione verso la demenza dei diversi test di memoria. Infine, molti dei test di uso comune non tengono conto dei recenti modelli sperimentali della funzione dell'ippocampo, che sembrano fornire importanti indicazioni sulle primissime fasi del coinvolgimento patologico dell'ippocampo. Lo studio, da svolgere sui pazienti afferenti al nuovo ambulatorio del Centro Brain Health e al CDCD, si propone sviluppare, standardizzare e validare nuovi test di memoria in controlli normali, SCD e soggetti MCI (compresi eventuali LANS), definiti sulla base di una batteria standard con test di memoria e di denominazione degli oggetti. Il test di somiglianza mnemonica è un test che valuta la “separazione dei modelli”, cioè, ad esempio, la distinzione tra diverse istanze dello stesso oggetto. La regione temporale mediale cruciale per questa forma di elaborazione è il giro dentato e in generale questa classe di compiti è correlata alla rete MTL antero-temporale. Il test di “completamento di schemi” è basato sulla memoria visiva. Gli oggetti, vecchi e nuovi, possono apparire a sinistra o a destra della fissazione. Il soggetto deve rispondere al momento del riconoscimento se l'immagine era a sinistra, a destra o nuova. L'analisi si basa sul profilo delle prestazioni a livello individuale o di gruppo. I risultati verranno correlati con i dati di risonanza magnetica strutturale quantitativa).

#### *PROTOCOLLI DI VALUTAZIONE PER LE DEMENZE FRONTO-TEMPORALI*

Le FTD rappresentano un gruppo eterogeneo di malattie neurodegenerative caratterizzate da progressiva atrofia dei lobi frontali e temporali del cervello. Queste demenze si manifestano comunemente con cambiamenti comportamentali, deficit del linguaggio e, in alcuni casi, con sintomi motori. Le FTD sono suddivise in quattro varianti principali: variante comportamentale (bvFTD), variante semantica comportamentale (SBv FTD), variante non fluente dell'afasia primaria progressiva (NFv PPA) e variante semantica variante dell'afasia primaria progressiva (Sv PPA). Una diagnosi precisa è essenziale ai fini clinico-assistenziali, prognostici e di ricerca. In particolare, esiste una relazione probabilistica tra fenotipo clinico e neuropatologia responsabile. E' quindi una priorità lo sviluppo di protocolli diagnostici ad alta specificità, applicabili in tempi ragionevoli. Nel caso di una sospetta PPA la valutazione di primo livello deve tenere conto del possibile impatto del disturbo di linguaggio su altri test. Per il secondo livello è in corso di standardizzazione il MLSE, versione italiana, che è destinato a soppiantare il test SAND. La raccolta dati comprende inoltre una



scala di gravità e un test di descrizione scritta di una figura complessa, Nel caso delle due varianti associate a disturbi del comportamento, il nuovo protocollo comprende Frontal Behavioral Inventory , Interpersonal reactivity index, Social Norms Questionnaire , la revised Self Monitoring Scale, test di riconoscimento delle emozioni e di teoria della mente, ed un nuovo test di comprensione concettuale di parole emozionali. Lo scopo del progetto è supportare la diagnosi differenziale tra Bv e Sbv.

#### *ULTERIORI STUDI COLLABORATIVI IN AMBITO NEUROPSICOLOGICO*

Il Centro, durante l'anno 2024, 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 all'Università Cattolica di Milano, il Centro ha contribuito alla pubblicazione di due articoli di rilievo clinico, nell'ambito del progetto *Behavioural Disorders of Spatial Cognition in Patients with Mild Cognitive Impairment due to Alzheimer's disease (BDSC-MCI)*, relativi alle funzioni di cognizione spaziale in soggetti che si collocano lungo il *continuum* tra invecchiamento normale ed MCI dovuto a malattia di Alzheimer (*Alzheimer's disease*; AD). Il primo (Cammisuli et al., *J. Pers. Med.*), ha dimostrato il ruolo predittivo di un noto *test* per la valutazione della memoria visuo-spaziale a lungo termine (Corsi Supra-Span Learning Test) rispetto agli errori di navigazione spaziale durante l'esplorazione di ambienti non noti in soggetti con disturbo cognitivo soggettivo ed MCI dovuto ad AD – ma non in soggetti di controllo –, dimostrando pertanto la validità ecologica del suddetto strumento ed evidenziandone di conseguenza la potenziale rilevanza clinica nella valutazione dei disturbi della cognizione spaziale nello spettro clinico dell'AD. Il secondo (Cammisuli et al., *J. Clin. Med.* ) ha dimostrato, nelle suddette popolazioni – *i.e.*, anziani sani, individui con disturbo cognitivo soggettivo e pazienti con MCI da AD –, l'associazione tra il genotipo ApoE-ε4 e cambiamenti nell'andatura, misurati tramite specifiche tecnologie di *gait analysis*, durante un compito naturalistico di navigazione spaziale – suggerendo come lievi alterazioni di siffatta natura possano rappresentare dei marcatori potenzialmente rilevanti a livello clinico per la detezione precoce di declino cognitivo imputabile ad un processo patofisiologico alzheimeriano.

Un'ulteriore collaborazione ha coinvolto l'IRCCS San Raffaele, la Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta e l'Università della California di San Francisco, nell'ambito della quale il Centro ha contribuito a una pubblicazione (Canu et al., *Eur. J. Neurol.*) nella quale sono state indagate le proprietà psicometriche, diagnostiche e di utilizzabilità clinica di una batteria di *test* per la valutazione della cognizione sociale – e, più nello specifico, del riconoscimento delle emozioni – nello spettro delle degenerazioni frontotemporal, definendo *cut-off* malattia-specifici per la popolazione italiana di interesse.

Con riferimento alla Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, il Centro ha contribuito alla pubblicazione di due articoli di rilievo clinico: il primo studio ha avuto l'obiettivo di valutare gli eventuali cambiamenti psicosociali in pazienti con distonia focale ed iperidrosi dopo l'inizio del trattamento con iniezioni intramuscolari di tossina botulinica (Marfoli et al., *J. Neural Transmiss.*). In particolare, lo studio si è concentrato sul monitoraggio delle variazioni di umore, autostima corporea, evitamento sociale e livello di disagio percepito. Il trattamento con tossina botulinica nella distonia si dimostra efficace nel migliorare alcuni aspetti psicosociali, in particolare i sintomi depressivi e la preoccupazione per i difetti fisici. Tuttavia, le differenze con il gruppo di controllo indicano che condizioni come l'iperidrosi possono avere un impatto sociale e psicologico più marcato, evidenziando la necessità di approcci terapeutici personalizzati per affrontare l'aspetto psicosociale in queste patologie. Il secondo ha esaminato come i fattori psicologici associati al dolore cronico influenzano gli esiti funzionali nei pazienti con fibromialgia (Mellace et al., *Clin. Exp. Rheumatol.*). I risultati indicano che i fattori psicologici, in particolare il catastrofismo e l'autoefficacia, giocano un ruolo cruciale nel determinare il funzionamento quotidiano e lo stato di salute fisica e mentale in questi pazienti. In particolare, tali variabili sembrano avere un'influenza maggiore rispetto all'intensità del dolore stesso. Queste evidenze sottolineano l'importanza di

interventi mirati non solo sul controllo del dolore, ma anche sul potenziamento dell'autoefficacia e sulla riduzione del pensiero catastrofico, al fine di migliorare la loro qualità di vita.

Infine, in collaborazione con l'Università di Milano, è stato pubblicato un articolo (Cocuzza et al., *Neurol. Sci.*) che dimostra deficit nell'utilizzo di strategie di categorizzazione semantica in pazienti con disfunzioni frontali e compromissioni specifiche a carico dell'area 9 della corteccia prefrontale dorsolaterale.

#### *PROGETTO "AVANZAMENTI IN MATERIA DI SCREENING COGNITIVO TELEFONICO" (TBCS)*

Nell'anno 2024, il Centro ha intrapreso uno studio osservazionale primariamente mirato allo studio psicometrico, diagnostico e di utilizzabilità clinica di test di *screening* cognitivo da remoto, e in particolare a telefono, in pz. con malattie neurodegenerative – denominato *Avanzamenti in materia di screening cognitivo telefonico* (acronimo: TBCS). Gli *screening* cognitivi telefonici rappresentano infatti una soluzione efficace ed accessibile per offrire un'iniziale valutazione dello stato cognitivo in tali popolazioni quand'ecco l'accesso ai servizi *de visu* non sia fattibile o risulti oltremodo difficoltoso, facilitando peraltro il monitoraggio longitudinale della funzionalità cognitiva attraverso la riduzione dei fenomeni di perdita al *follow-up*. Siffatto studio si contestualizza nella sempre più intensa attenzione accordata all'integrazione delle pratiche di telemedicina nei percorsi di diagnosi e cura in neurologia, rappresentando un passo fondamentale per rendere le valutazioni cognitive di primo livello più accessibili e sostenibili anche al netto di barriere logistiche, geografiche, economiche e organizzative. Nell'anno 2024, un'intensa attività di reclutamento ha permesso l'inclusione nello studio di 89 pz., di cui 72 con MCI o demenza ad eziologia neurodegenerativa (AD, FTD, malattia con corpi di Lewy), cerebrovasculopatica cronica e mista (*i.e.*, cerebrovasculopatica cronica e degenerativa) e 18 con SLA, a cui sono stati somministrati test di *screening* cognitivo telefonico valutanti l'efficienza cognitiva globale, le funzioni esecutive ed il linguaggio, ed ai cui *caregiver* sono stati rivolto questionari valutanti alterazioni comportamentali e l'indipendenza funzionale dei pz. nella vita quotidiana. Parallelamente, sono stati reclutati 103 soggetti di controllo, sottoposti all'intera batteria cognitiva telefonica. Nell'ambito del medesimo studio, inoltre, anche attraverso giornate di *screening* cognitivo gratuito organizzate nel corso dell'anno 2024 dal Centro, sono stati reclutati ulteriori 104 soggetti di controllo a cui sono stati somministrati sia *screeners* cognitivi *de visu* di ampio impiego (*i.e.*, *Mini-Mental State Examination* e MoCA) che un test di *screening* cognitivo generale a telefono (*i.e.*, *Telephone Interview for Cognitive Status*) – al fine di derivare norme di conversione tra *screeners* in presenza e telefonici, che potranno garantire un più flessibile impiego di siffatti strumenti al netto della modalità di somministrazione (*i.e.*, di persona *vs.* telefonica). Lo studio, tuttora in corso, proseguirà per almeno altri due anni, e le prime pubblicazioni derivanti dai dati già raccolti e/o in corso di rilevamento sono previste per l'anno 2025.

#### *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 2024 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, Demenza Fronto Temporale e Cefalee. 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 2024 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 (neuromodulatori e gepanti) per il controllo di invalidità e dolore da essa generate (Studi PEARL, TRIUMPH, ECLIPSE) e device terapeutici (PM010 - Chordate). Sono stati inoltre programmati per il 2025 trial clinici di fase II e III

su nuove tossine botuliniche a lunga durata per il trattamento di diverse patologie (distonie, cefalee, etc). Sono stati inoltre avviati trial terapeutici nel controllo delle allucinazioni e dell'agitazione psicomotri nella demenza di Alzheimer.

L' ATTIVITÀ DELL' IRCCS ISTITUTO AUXOLOGICO ITALIANO SI È ARTICOLATA NEL 2024 CON I SEGUENTI CENTRI:

### **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 37. Il CDCD in quanto parte della UO Neurologia è parte integrante dell'Istituto Virtuale Demenze della Rete RIN delle Neuroscienze e della Neuroriabilitazione.

### **CENTRO BRAIN HEALTH**

Con il Prof. Stefano Cappa è stata apprestata l'organizzazione di un Centro Brain Health volto a diagnosticare in fase pre-clinica le demenze per avviare precocemente una correzione dei 14 fattori di rischio identificati dalla comunità internazionale e prevenire potenzialmente il deficit cognitivo. Il paziente con soggettivo deficit mnemonico o familiarità per demenza viene accuratamente fenotipizzato e sottoposto a valutazione neuropsicologica con RMN encefalo per poi essere gestito nell' ambito di un programma riabilitativo che prevede anche la TMS o, se giudicato meritevole di ulteriore accertamenti, inviato al CDCD per ricerca di biomarcatori liquorali e/o plasmatici.

### **CENTRO SCLEROSI LATERALE AMIOTROFICA (SLA)**

Nell'anno 2024, 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 length analysis in fluorescenza e Repet-primed PCR). Il pannello NGS da noi utilizzato comprende anche geni causativi di altre malattie neurodegenerative in stretta sovrapposizione clinico-molecolare tra loro (Demenza frontotemporale, Malattia di

Alzheimer, Amiloidosi cerebrale, Malattia di Parkinson), consentendo un più ampio e completo inquadramento diagnostico dei pazienti;

- sviluppo di nuovi parametri neurofisiologici per definizione del numero residuo di Unità Motorie (MUNE) ed analisi neurofisiologica della funzionalità diaframmatici per porre indicazione alla NIV;
- analisi delle caratteristiche nutrizionali con studio della PEG, BMI, etc, in collaborazione con l'Unità di Endocrinologia dell'IRCCS Istituto Auxologico Italiano;
- valutazione neuropsicologica longitudinale dei pazienti affetti da SLA mediante valutazioni seriate nel tempo al fine di evidenziare la presenza e l'evoluitività di specifici deficit cognitivi e/o comportamentali, tramite la somministrazione dello strumento di screening ECAS, messo a punto e validato nella sua versione italiana dal Servizio di Neuropsicologia e psicologia Clinica (Poletti et al., 2016);
- 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 in Europa.

#### CENTRO MALATTIA di PARKINSON E DISORDINI DEL MOVIMENTO

Nel corso dell'anno 2024, 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 2024 è inoltre completato 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.

Il Centro si fa promotore di una riunione annuale rivolta al pubblico nell' ambito della giornata nazionale organizzata dal L.I.M.P.E. con notevole riscontro.

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 2024 ha ulteriormente incrementato l'attività clinica ambulatoriale e ha ampliato l'offerta terapeutica erogando, oltre agli anticorpi monoclonali anti CGRP, anche i nuovi farmaci antiemicranici, i gepanti.

L'attività scientifica è proseguita con la partecipazione al progetto PERLA (Modalità integrata e coordinata di presa in cura dei pazienti con cefalea primaria cronica) promosso da Regione Lombardia), e a 2 trial clinici internazionali, Eclipse (randomized, double blind, placebo controlled, multiple attack study to evaluate the efficacy, safety, tolerability of atogepant for the acute treatment of migraine) e

PM010 Chordate (An open Post-marketing Clinical Follow-up investigation to follow long-term performance and safety of intranasal kinetic oscillation in subjects with Chronic migraine)

Nel 2024 è previsto il coinvolgimento del Centro in altri trial clinici multicentrici nazionali ed internazionali

Il Centro Cefalee inoltre partecipa alla raccolta dei dati clinici dei pazienti emicranici da inserire in diversi registri nazionali (RICE, I-GRAINE, I-NEED)

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 selettive anti CGRP (anticorpi monoclonali ed atogepant)
- 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

Numero pazienti ambulatoriali: 3000

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: 250

Numero ambulatori tossina botulinica: 4/settimana

Numero pazienti in trattamento con tossina botulinica: 180

Trial Cefalee:

Eclipse randomized, double blind, placebo controlled, multiple attack study to evaluate the efficacy, safety, tolerability of atogepant for the acute treatment of migraine

PM010 Chordate: An open Post-marketing Clinical Follow-up investigation to follow long-term performance and safety of intranasal kinetic oscillation in subjects with chronic migraine

#### CENTRO DI MEDICINA DEL SONNO

È continuata nel corso del 2024 l'attività del Centro di Medicina del Sonno presso l'IRCCS Istituto Auxologico Italiano, Ospedale San Luca, diretto dalla Prof.ssa Lombardi.

Nello 2024 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 2024

Casiraghi V, Sorce MN, Santangelo S, Invernizzi S, Bossolasco P, Lattuada C, Battaglia C, Venturin M, Silani V, Colombrita C, Ratti A.

*Modeling of TDP-43 proteinopathy by chronic oxidative stress identifies rapamycin as beneficial in ALS patient-derived 2D and 3D iPSC models.*

**Exp Neurol.** 2025. doi: 10.1016/j.expneurol.2024.115057. Epub 2024 Nov 12. PMID: 39536963

Kacem I, Sghaier I, Ben Rhouma H, Ratti A, Ticozzi N, Silani V, Gouider-Khouja N, Gouider R. *Association of Amyotrophic Lateral Sclerosis and Dopa-responsive dystonia in a Tunisian patient.*

**Parkinsonism Relat Disord.** 2025. doi: 10.1016/j.parkreldis.2024.107171. Epub 2024 Oct 16. PMID: 39531950

Gagliardi D, Rizzuti M, Masrori P, Saccomanno D, Del Bo R, Sali L, Meneri M, Scarcella S, Milone I, Hersmus N, Ratti A, Ticozzi N, Silani V, Poesen K, Van Damme P, Comi GP, Corti S, Verde F.

*Exploiting the role of CSF NfL, CHIT1, and miR-181b as potential diagnostic and prognostic biomarkers for ALS.*

**J Neurol.** 2024 Dec;271(12):7557-7571. doi: 10.1007/s00415-024-12699-1. Epub 2024 Sep 28. PMID: 39340541.

Agosta F, Basaia S, Spinelli EG, Facente F, Lumaca L, Ghirelli A, Canu E, Castelnovo V, Sibilla E, Tripodi C, Freri F, Cecchetti G, Magnani G, Caso F, Verde F, Ticozzi N, Silani V, Caroppo P, Prioni S, Villa C, Tremolizzo L, Appollonio I, Raj A, Filippi M.

*Modelling pathological spread through the structural connectome in the frontotemporal dementia clinical spectrum.*

**Brain.** 2024 Nov. doi: 10.1093/brain/awae391. Online ahead of print. PMID: 39611765

Casiraghi V, Milone I, Brusati A, Peverelli S, Doretto A, Poletti B, Maderna L, Morelli C, Ticozzi N, Silani V, Verde F, Ratti A.

*Quantification of serum TDP-43 and neurofilament light chain in patients with amyotrophic lateral sclerosis stratified by UNC13A genotype.*

**J Neurol Sci.** 2024 Nov. doi: 10.1016/j.jns.2024.123210. Epub 2024 Sep 2. PMID: 39241471

Saez-Atienzar S, Souza CDS, Chia R, Beal SN, Lorenzini I, Huang R, Levy J, Burciu C, Ding J, Gibbs JR, Jones A, Dewan R, Pensato V, Peverelli S, Corrado L, van Vugt JJFA, van Rheenen W, Tunca C, Bayraktar E, Xia M; International ALS Genomics Consortium; ITALSGEN Consortium; SLAGEN Consortium; Project MinE ALS Sequencing Consortium; Iacoangeli A, Shatunov A, Tiloca C, Ticozzi N, Verde F, Mazzini L, Kenna K, Al Khleifat A, Opie-Martin S, Raggi F, Filosto M, Piccinelli SC, Padovani A, Gagliardi S, Inghilleri M, Ferlini A, Vasta R, Calvo A, Moglia C, Canosa A, Manera U, Grassano M, Mandrioli J, Mora G, Lunetta C, Tanel R, Trojsi F, Cardinali P, Gallone S, Brunetti M, Galimberti D, Serpente M, Fenoglio C, Scarpini E, Comi GP, Corti S, Del Bo R, Ceroni M, Pinter GL, Taroni F, Bella ED, Bersano E, Curtis CJ, Lee SH, Chung R, Patel H, Morrison KE, Cooper-Knock J, Shaw PJ, Breen G, Dobson RJB, Dalgard CL; American Genome Center; Scholz SW, Al-Chalabi A, van den Berg LH, McLaughlin R, Hardiman O, Cereda C, Sorarù G, D'Alfonso S, Chandran S, Pal S, Ratti A, Gellera C, Johnson K, Doucet-O'Hare T, Pasternack N, Wang T, Nath A, Siciliano G, Silani V, Başak AN, Veldink JH, Camu W, Glass J...

*See abstract for full author list →Mechanism-free repurposing of drugs for C9orf72-related ALS/FTD using large-scale genomic data.*

**Cell Genom.** 2024 Nov 13;4(11):100679. doi: 10.1016/j.xgen.2024.100679. Epub 2024 Oct 21. PMID: 39437787

Santangelo S, Invernizzi S, Sorce MN, Casiraghi V, Peverelli S, Brusati A, Colombrita C, Ticozzi N, Silani V, Bossolasco P, Ratti A.

*NEK1 haploinsufficiency worsens DNA damage, but not defective ciliogenesis, in C9ORF72 patient-derived iPSC-motoneurons.*

**Hum Mol Genet.** 2024 Nov 5;33(21):1900-1907. doi: 10.1093/hmg/ddae121. PMID: 39222049

Aiello EN, Solca F, Torre S, Curti B, De Luca G, Bonetti R, Scheveger F, Colombo E, Maranzano A, Olivero M, Morelli C, Doretto A, Maderna L, Verde F, Ferrucci R, Barbieri S, Ruggiero F, Mellace D, Marfoli A, De Sandi A, Priori A, Pravettoni G, Silani V, Ticozzi N, Ciammola A, Poletti B. *Reliable change indices for the Italian version of the Montreal Cognitive Assessment (MoCA) in non-demented Parkinson's disease patients.*

**BMC Neurol.** 2024 Nov 4;24(1):427. doi: 10.1186/s12883-024-03920-9. PMID: 39497078

Castelnovo V, Canu E, Aiello EN, Curti B, Sibilla E, Torre S, Freri F, Tripodi C, Lumaca L, Spinelli EG, Schito P, Russo T, Falzone Y, Verde F, Silani V, Ticozzi N, Sturm VE, Rankin KP, Gorno-Tempini ML, Poletti B, Filippi M, Agosta F.

*How to detect affect recognition alterations in amyotrophic lateral sclerosis.*



**J Neurol.** 2024 Nov;271(11):7208-7221. doi: 10.1007/s00415-024-12686-6. Epub 2024 Sep 17. PMID: 39287680

Crema C, Verde F, Tiraboschi P, Marra C, Arighi A, Fostinelli S, Giuffrè GM, Maschio VPD, L'Abbate F, Solca F, Poletti B, Silani V, Rotondo E, Borracchi V, Vimercati R, Crepaldi V, Inguscio E, Filippi M, Caso F, Rosati AM, Quaranta D, Binetti G, Pagnoni I, Morreale M, Burgio F, Maserati MS, Capellari S, Pardini M, Girtler N, Piras F, Piras F, Lalli S, Perdixi E, Lombardi G, Tella SD, Costa A, Capelli M, Fundaro C, Manera M, Muscio C, Pellencin E, Lodi R, Tagliavini F, Redolfi A. *Medical Information Extraction With NLP-Powered QABots: A Real-World Scenario.*

**IEEE J Biomed Health Inform.** 2024 Nov;28(11):6906-6917. doi: 10.1109/JBHI.2024.3450118. Epub 2024 Nov 6. PMID: 39190519

Aiello EN, Torre S, Solca F, Curti B, De Luca G, Gendarini C, Cocuzza A, Colombo E, Maranzano A, Verde F, Morelli C, Messina S, Doretta A, Silani V, Ticozzi N, Poletti B.

*Ecological validity of performance-based cognitive screeners in amyotrophic lateral sclerosis: preliminary evidence.*

**Neurol Sci.** 2024 Nov;45(11):5319-5325. doi: 10.1007/s10072-024-07660-z. Epub 2024 Jun 21. PMID: 38904901

Ruggiero F, Mameli F, Aiello EN, Zirone E, Cogiamanian F, Borellini L, Pirola E, Ampollini A, Poletti B, De Sandi A, Prenassi M, Marceglia S, Ticozzi N, Silani V, Locatelli M, D'Urso G, Barbieri S, Priori A, Ferrucci R.

*Can total electrical energy (TEED) after subthalamic DBS alter verbal fluency in Parkinson's disease patients? A preliminary evidence.*

**CNS Spectr.** 2024 Oct 28;1-4. doi: 10.1017/S1092852924000439. Online ahead of print. PMID: 39463132

Aiello EN, Curti B, Torre S, De Luca G, Maranzano A, Colombo E, Gendarini C, Cocuzza A, Messina S, Doretta A, Verde F, Morelli C, Silani V, Ticozzi N, Poletti B.

*Clinical usefulness of the Verbal Fluency Index (VFI) in amyotrophic lateral sclerosis.*

**Neurol Sci.** 2024 Oct 15. doi: 10.1007/s10072-024-07789-x. Online ahead of print. PMID: 39404920

Lorenzini L, Maranzano A, Ingala S, Collij LE, Tranfa M, Blennow K, Di Perri C, Foley C, Fox NC, Frisoni GB, Haller S, Martinez-Lage P, Mollison D, O'Brien J, Payoux P, Ritchie C, Scheltens P, Schwarz AJ, Sudre CH, Tijms BM, Verde F, Ticozzi N, Silani V, Visser PJ, Waldman A, Wolz R, Chételat G, Ewers M, Wink AM, Mutsaerts H, Gispert JD, Wardlaw JM, Barkhof F.

*Association of Vascular Risk Factors and Cerebrovascular Pathology With Alzheimer Disease Pathologic Changes in Individuals Without Dementia.*

**Neurology.** 2024 Oct 8;103(7):209801. doi: 10.1212/WNL.0000000000209801. Epub 2024 Sep 17. PMID: 39288341

Ostuzzi SMT, Aiello EN, Ingegnoli F, Pistarini C, Poletti B, Silani V, Fiabane E.

*Disease disclosure in the workplace in people living with rheumatic diseases: an exploratory study.*

**Reumatismo.** 2024 Oct 1;76(4). doi: 10.4081/reumatismo.2024.1689. PMID: 39352271

Poletti B, Aiello EN, Consonni M, Iazzolino B, Torre S, Solca F, Faltracco V, Telesca A, Palumbo F, Dalla Bella E, Bersano E, Riva N, Verde F, Messina S, Doretta A, Maranzano A, Morelli C, Calvo A, Silani V, Lauria G, Chiò A, Ticozzi N.

*Prevalence and motor-functional correlates of frontotemporal-spectrum disorders in a large cohort of non-demented ALS patients.*

**J Neurol.** 2024 Oct;271(10):6944-6955. doi: 10.1007/s00415-024-12658-w. Epub 2024 Sep 5. PMID: 39235524

Di Lazzaro V, Ranieri F, Doretto A, Boscarino M, Maderna L, Colombo E, Soranna D, Zambon A, Ticozzi N, Musumeci G, Capone F, Silani V.

*Transcranial static magnetic stimulation for amyotrophic lateral sclerosis: a bicentric, randomised, double-blind placebo-controlled phase 2 trial.*

**Lancet Reg Health Eur.** 2024 Jul. doi: 10.1016/j.lanepe.2024.101019. eCollection 2024 Oct. PMID: 39185360

Faltracco V, Poletti B, Aiello EN, Telesca A, Bella ED, Bersano E, Silani V, Ticozzi N, Lauria G, Consonni M.

*Emotional awareness in patients with amyotrophic lateral sclerosis.*

**Neurol Sci.** 2024 Oct;45(10):5043-5046. doi: 10.1007/s10072-024-07671-w. Epub 2024 Jul 2. PMID: 38954274

Abati E, Gagliardi D, Manini A, Del Bo R, Ronchi D, Meneri M, Beretta F, Sarno A, Rizzo F, Monfrini E, Di Fonzo A, Pellecchia MT, Brusati A, Silani V, Comi GP, Ratti A, Verde F, Ticozzi N, Corti S.

*Investigating the prevalence of MFN2 mutations in amyotrophic lateral sclerosis: insights from an Italian cohort.*

**Brain Commun.** 2024 Sep 23;6(5):312. doi: 10.1093/braincomms/fcae312. eCollection 2024. PMID: 39315308

Aiello EN, Contarino VE, Conte G, Solca F, Curti B, Maranzano A, Torre S, Casale S, Doretto A, Colombo E, Verde F, Silani V, Liu C, Cinnante C, Triulzi FM, Morelli C, Poletti B, Ticozzi N.

*QSM-detected iron accumulation in the cerebellar gray matter is selectively associated with executive dysfunction in non-demented ALS patients.*

**Front Neurol.** 2024 Sep. doi: 10.3389/fneur.2024.1426841. eCollection 2024. PMID: 39364420

Cammisuli DM, Bellocchio V, Milesi A, Aiello EN, Poletti B, Verde F, Silani V, Ticozzi N, Marchesi G, Granese V, Vignati B, Isella V, Zago S, Difonzo T, Pomati S, Porta G, Cattaldo S, Mauro A, Castelnovo G.

*Behavioral Alterations of Spatial Cognition and Role of the Apolipoprotein E-ε4 in Patients with MCI Due to Alzheimer's Disease: Results from the BDSC-MCI Project.*

**J Clin Med.** 2024 Sep 13;13(18):5447. doi: 10.3390/jcm13185447. PMID: 39336934

Pierro S, Verde F, Maranzano A, De Gobbi A, Colombo E, Doretto A, Messina S, Maderna L, Ratti A, Girotti F, Andreetta F, Silani V, Morelli C, Ticozzi N.

*Further insights into anti-IgLON5 disease: a case with complex clinical presentation.*

**BMC Neurol.** 2024 Sep 10;24(1):334. doi: 10.1186/s12883-024-03837-3. PMID: 39256712

Gianferrari G, Cuoghi Costantini R, Crippa V, Carra S, Bonetto V, Pansarasa O, Cereda C, Zucchi E, Martinelli I, Simonini C, Vicini R, Fini N, Trojsi F, Passaniti C, Ticozzi N, Doretto A, Diamanti L, Fiamingo G, Conte A, Dalla Bella E, D'Errico E, Scarian E, Pasetto L, Antoniani F, Galli V, Casarotto E;

Co-ALS Investigators Group; D'Amico R, Poletti A, Mandrioli J.

*Colchicine treatment in amyotrophic lateral sclerosis: safety, biological and clinical effects in a randomized clinical trial.*

**Brain Commun.** 2024 Sep 5;6(5):304. doi: 10.1093/braincomms/fcae304. eCollection 2024. PMID: 39291166. Clinical Trial

Iakovleva V, Verde F, Cinnante C, Sillani A, Conte G, Corsini E, Ciusani E, Erbetta A, Silani V, Ticozzi N.

*Duopathy as a rare motor neuron disease mimic: from bibrachial amyotrophy to infratentorial superficial siderosis.*

**BMC Neurol.** 2024 Sep 2;24(1):309. doi: 10.1186/s12883-024-03799-6. PMID: 39223525

Verde F, Licaj S, Soranna D, Ticozzi N, Silani V, Zambon A.

*Cerebrospinal fluid and blood neurofilament light chain levels in amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal degeneration: A meta-analysis.*

**Eur J Neurol.** 2024 Sep;31(9):16371. doi: 10.1111/ene.16371. Epub 2024 Jun 27. PMID: 38937912

Maranzano A, Verde F, Dubini A, Torre S, Colombo E, Doretto A, Gentile F, Manini A, Milone I, Brusati A, Peverelli S, Santangelo S, Spinelli EG, Torresani E, Gentilini D, Messina S, Morelli C, Poletti B, Agosta F, Ratti A, Filippi M, Silani V, Ticozzi N.

*Association of APOE genotype and cerebrospinal fluid A $\beta$  and tau biomarkers with cognitive and motor phenotype in amyotrophic lateral sclerosis.*

**Eur J Neurol.** 2024 Sep;31(9):16374. doi: 10.1111/ene.16374. Epub 2024 Jun 10. PMID: 38853763

Aiello EN, Mameli F, Ruggiero F, Zirone E, Zago S, Piacentini S, Poletti B, Reitano MR, Santangelo G, Ticozzi N, Silani V, Priori A, Ferrucci R. Psychometrics and diagnostics of the Italian version of the Alternate Verbal Fluency Battery (AVFB) in non-demented Parkinson's disease patients. *Neurol Sci.* 2024 Aug;45(8):3767-3774. doi: 10.1007/s10072-024-07436-5. Epub 2024 Mar 11. PMID: 38467953

Marriott H, Spargo TP, Al Khleifat A, Andersen PM, Başak NA, Cooper-Knock J, Corcia P, Couratier P, de Carvalho M, Drory V, Gotkine M, Landers JE, McLaughlin R, Pardina JSM, Morrison KE, Pinto S, Shaw CE, Shaw PJ, Silani V, Ticozzi N, van Damme P, van den Berg LH, Vourc'h P, Weber M, Veldink JH;

*Project MinE ALS Sequencing Consortium; Dobson RJ, Schwab P, Al-Chalabi A, Iacoangeli A. Mutations in the tail and rod domains of the neurofilament heavy-chain gene increase the risk of ALS.*

**Ann Clin Transl Neurol.** 2024 Jul;11(7):1775-1786. doi: 10.1002/acn3.52083. Epub 2024 May 22. PMID: 38775181

Ghirelli A, Spinelli EG, Canu E, Basaia S, Castelnovo V, Cecchetti G, Sibilla E, Domi T, Magnani G, Caso F, Caroppo P, Prioni S, Villa C, Rossi G, Tremolizzo L, Appollonio I, Verde F, Ticozzi N, Silani V, Filippi M, Agosta F.

*Clinical and neuroanatomical characterization of the semantic behavioral variant of frontotemporal dementia in a multicenter Italian cohort.*

**J Neurol.** 2024 Jul;271(7):4203-4215. doi: 10.1007/s00415-024-12338-9. Epub 2024 Apr 10. PMID: 38597943

Keller Sarmiento IJ, Bustos BI, Blackburn J, Hac NEF, Ruzhnikov M, Monroe M, Levy RJ, Kinsley L, Li M, Silani V, Lubbe SJ, Krainc D, Mencacci NE.

*De novo FRMD5 Missense Variants in Patients with Childhood-Onset Ataxia, Prominent Nystagmus, and Seizures. Mov Disord.* 2024 Jul;39(7):1231-1236. doi: 10.1002/mds.29791.

Epub 2024 Apr 4. PMID: 38576116. *We recommend including FRMD5 in the genetic workup of childhood-onset ataxia and nystagmus. 2024 The Authors.*

**Movement Disorders** published by Wiley Periodicals LLC on behalf of International Parkinson and Movement Disorder Society....

Silani V.

*Continuity of treatment in ALS: Benefits and challenges of maintaining riluzole over the course of the disease*

**J Neurol Sci.** 2024 Jun. doi: 10.1016/j.jns.2024.123038. Epub 2024 May 9. PMID: 38761668

Taş G, Westerdijk T, Postma E; Project MinE ALS GWAS Consortium;

*Computing linkage disequilibrium aware genome embeddings using autoencoders. Veldink JH, Schönhuth A, Balvert M.*

**Bioinformatics.** 2024 Jun 3;40(6): 326. doi: 10.1093/bioinformatics/btae326. PMID: 38775680

Van Damme P, Al-Chalabi A, Andersen PM, Chiò A, Couratier P, De Carvalho M, Hardiman O, Kuźma-Kozakiewicz M, Ludolph A, McDermott CJ, Mora JS, Petri S, Probyn K, Reviers E, Salachas F, Silani V, Tysnes OB, van den Berg LH, Villanueva G, Weber M.

*European Academy of Neurology (EAN) guideline on the management of amyotrophic lateral sclerosis in collaboration with European Reference Network for Neuromuscular Diseases (ERN EURO-NMD).* *Eur J Neurol.* 2024 Jun;31(6):e16264. doi: 10.1111/ene.16264.

**Epub** 2024 Mar 12. PMID: 38470068

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.** 2024 May 21;39(4):418-422. doi: 10.1093/arclin/acad087. PMID: 37974300

Cammisuli DM, Marchesi G, Bellocchio V, Aiello EN, Poletti B, Verde F, Silani V, Ticozzi N, Zago S, Difonzo T, Isella V, Pomati S, Granese V, Vignati B, Prete LA, Castelnuevo G.

*Behavioral Disorders of Spatial Cognition in Patients with Mild Cognitive Impairment Due to Alzheimer's Disease (The BDSC-MCI Project): Ecological Validity of the Corsi Learning Suvra-Span Test.*

**J Pers Med.** 2024 May 17;14(5):539. doi: 10.3390/jpm14050539. PMID: 38793121

Pasquini J, Firbank MJ, Best L, Foster V, Galley D, Silani V, Ceravolo R, Petrides G, Brooks DJ, Anderson KN, Pavese N.

*Hypothalamic involvement in multiple system atrophy: A structural MRI study.*

**J Neurol Sci.** 2024 May 15;460:122985. doi: 10.1016/j.jns.2024.122985. **Epub** 2024 Apr 2. PMID: 38581741

Conca F, Esposito V, Catricalà E, Manenti R, L'Abbate F, Quaranta D, Giuffrè GM, Rossetto F, Solca F, Orso B, Inguscio E, Crepaldi V, De Matteis M, Rotondo E, Manera M, Caruso G, Catania V, Canu E, Rundo F, Cotta Ramusino M, Filippi M, Fundarò C, Piras F, Arighi A, Tiraboschi P, Stanzani Maserati M, Pardini M, Poletti B, Silani V, Marra C, Di Tella S, Cotelli M, Lodi R, Tagliavini F, Cappa SF.

*Clinical validity of the Italian adaptation of the Uniform Data Set Neuropsychological Test Battery (I-UDSNB) in Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease.*

**Alzheimers Res Ther.** 2024 May 4;16(1):98. doi: 10.1186/s13195-024-01465-0. PMID: 38704608

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.** 2024 Mar;45(3):1087-1095. doi: 10.1007/s10072-023-07074-3. **Epub** 2023 Sep 29. PMID: 37773576

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.** 2024 Mar;45(3):1079-1086. doi: 10.1007/s10072-023-07070-7. **Epub** 2023 Sep 28. PMID: 37770762

Cammisuli DM, Isella V, Verde F, Silani V, Ticozzi N, Pomati S, Bellocchio V, Granese V, Vignati B, Marchesi G, Prete LA, Pavanello G, Castelnuevo G.

*Behavioral Disorders of Spatial Cognition in Patients with Mild Cognitive Impairment due to Alzheimer's Disease: Preliminary Findings from the BDSC-MCI Project.*

**J Clin Med.** 2024 Feb 19;13(4):1178. doi: 10.3390/jcm13041178. PMID: 38398490

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.** 2024 Feb;25(1-2):207-210. doi: 10.1080/21678421.2023.2273965.

Epub 2024 Jan 23. PMID: 38099605

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.** 2024 Feb;25(1-2):128-134. doi: 10.1080/21678421.2023.2273961. Epub 2024 Jan 23. PMID: 37904275

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.** 2024 Feb;271(2):794-803. doi: 10.1007/s00415-023-12015-3. Epub 2023 Oct 6. PMID: 37801095

Giardina E, Mandich P, Ghidoni R, Ticozzi N, Rossi G, Fenoglio C, Tiziano FD, Esposito F, Capellari S, Nacmias B, Mineri R, Campopiano R, Di Pilla L, Sammarone F, Zampatti S, Peconi C, De Angelis F, Palmieri I, Galandra C, Nicodemo E, Origone P, Gotta F, Ponti C, Nicsanu R, Benussi L, Peverelli S, Ratti A, Ricci M, Di Fede G, Magri S, Serpente M, Lattante S, Domi T, Carrera P, Saltimbanco E, Bagnoli S, Ingannato A, Albanese A, Tagliavini F, Lodi R, Caltagirone C, Gambardella S, Valente EM, Silani V.

*Distribution of the C9orf72 hexanucleotide repeat expansion in healthy subjects: a multicenter study promoted by the Italian IRCCS network of neuroscience and neurorehabilitation.*

**Front Neurol.** 2024 Jan. doi: 10.3389/fneur.2024.1284459. eCollection 2024. PMID: 38356886

Aiello EN, Solca F, Torre S, Colombo E, Maranzano A, De Lorenzo A, Patisso V, Treddenti M, Curti B, Morelli C, Doretti A, Verde F, Ferrucci R, Barbieri S, Ruggiero F, Priori A, Silani V, Ticozzi N, Poletti B.

*Longitudinal Feasibility of the Montreal Cognitive Assessment (MoCA) in Non-Demented ALS Patients.*

**Eur Neurol.** 2024;87(2):79-83. doi: 10.1159/000538828. Epub 2024 Apr 20. PMID: 38643758

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, a Screener for Selective Attention Deficits: Standardization in an Italian Population Sample and Clinical Usability in Acute Stroke Patients.*

**Cerebrovasc Dis.** 2024;53(1):62-68. doi: 10.1159/000531160. Epub 2023 Jun 1. PMID: 37263262

Hop PJ, Lai D, Keagle PJ, Baron DM, Kenna BJ, Kooyman M, Shankaracharya, Halter C, Straniero L, Asselta R, Bonvegna S, Soto-Beasley AI; Project MinE ALS Sequencing Consortium; Wszolek ZK, Uitti RJ, Isaias IU, Pezzoli G, Ticozzi N, Ross OA, Veldink JH, Foroud TM, Kenna KP, Landers JE.

*Systematic rare variant analyses identify RAB32 as a susceptibility gene for familial Parkinson's disease.*

**Nat Genet.** 2024 Jul;56(7):1371-1376. doi: 10.1038/s41588-024-01787-7. Epub 2024 Jun 10. PMID: 38858457

**TOTALE I.F. 228,5**

INIZIATIVE DIDATTICHE ISTITUZIONALI

**I mercoledì dell'aggiornamento relativo ai casi clinici/laboratorio**

- Discussione casi clinici

**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 – 2024

GRANT ATTIVI NEL 2024			
Tipo bando e finanziamento	Ente finanziatore	Titolo	Finanziamento quota IAI
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
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/PS combined approach - PERMEALS	€ 200.000,00
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
Call for Applications for ALS research projects	ArSLA	Genome wide investigation of oligogenic inheritance in ALS: searching for disease genes with machine learning in a population-based cohort	€ 47.400,00
Approvazione del Progetto Regionale sulla Cefalea Primaria Cronica ai sensi del Decreto del Ministero della Salute del 23 Marzo 2023	Regione Lombardia	Modalità integrata e coordinata di presa in cura dei pazienti con cefalea primaria cronica in Regione Lombardia	€ 33.000,00
FRRB Bando Early Career Award II Edizione	Fondazione Regionale per la Ricerca Biomedica	Valutazione longitudinale e integrata dei biomarcatori in relazione al fenotipo nella SLA	€ 500.000,00
TOTALE			€ 1.575.938,00

TRIALS ATTIVI NEL 2024		
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 fitemanezumab 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
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 IIIb, 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
DenaB Therapeutics Inc.	Studio di fase 1/2, multicentrico, randomizzato, controllato con placebo, a dose singola e multi-dose 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 IIIb, in aperto, per valutare la sicurezza e la tollerabilità di AMX035 fino a 108 settimane in partecipanti adulti affetti da sclerosi laterale amiotrofica (SLA) precedentemente arruolati nello studio A35-004 (PHOENIX)	€ 16.450,00
Ferrer International 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 cartella cliniche	€ 4.500,00
Chondate 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
AbbVie S.r.l.	Ottimizzazione del trattamento nei pazienti con malattia di Parkinson mediante l'utilizzo del MANAGE-PD tool nella pratica clinica in Italia	€ 7.700,00
AbbVie S.r.l.	Studio randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo, basato su più attacchi, con un'estensione in aperto per valutare l'efficacia, la sicurezza, la tollerabilità e la coerenza dell'effetto di atogepant per il trattamento acuto dell'emicrania (ECLIPSE)	€ 57.699,30
TOTALE		€ 245.964,85

Bando Ricerca Finalizzata GR 2021, ADONIS (“Autoimmune Dementia: predictors of neuronal synaptic antibodies in patients with new-Onset cognitive Impairment and their relevance in non-encephalitic formS. The ADONIS Study”. 30.04.2023-in corso (durata del progetto: 36 mesi). Codice del progetto: GR-2021-12373134. Centri coinvolti: IRCCS Istituto delle Scienze Neurologiche di Bologna (ISNB) (centro promotore); IRCCS Istituto Auxologico Italiano (Milano); IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta (Milano). Il PI dell'intero progetto è la Dott.ssa Maria Pia Giannoccaro (IRCCS ISNB). PI locale IRCCS Istituto Auxologico Italiano: F. Verde. Finanziamento totale del progetto: 450.000 Euro. Finanziamento per IRCCS Istituto Auxologico Italiano: 153.538 Euro.





**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 Roberto Giorda

Dott Alessandra Mozzi

Dott. Elena Panzeri

Dott. Fabiana Mambretti

Dott. Eliana Salvo

Dott. Manuela Sironi

Dott. Chiara Vantaggiato

**BIOINGEGNERE**

Ing Uberto Pozzoli

**BIOTECNOLOGI**

Dott. Diego Forni

Dott. Marco Pozzi

**PERSONALE LAUREATO BORSISTA-CONTRATTISTA: BIOTECNOLOGI**

Dott. Luca Fumagalli

Dott. Francesca Brivio

**PERSONALE TECNICO STRUTTURATO**

Cinzia Baschiroto

Luca Cesana

Paola Pozzi

Sandra Belluschi

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).

Nel complesso sono stati analizzati 150 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 in parte atipici rispetto a quanto riportato in letteratura in casi di paraparesi spastica e atassia e forme sindromiche associate al neurosviluppo. I geni coinvolti sono *SINGAPI*, *CAPN1*, *MORC2*, *DHX30*, *MARS2*, *BPTF* e almeno 3 nuovi candidati per forme sindromiche del neurosviluppo in corso di caratterizzazione.

Parallelamente, si è proseguita la caratterizzazione dei fibroblasti di una paziente di 16 anni con paraplegia spastica, disabilità intellettiva, epilessia mioclonica e sordità. Questa paziente ha una nuova variante missenso nel gene *LICAM* (p.Pro718Thr), classificata come probabilmente patogena, e una variante *de novo* nel gene *HNRPNR* (p.Pro584Ala), di significato incerto. Per definire l'apporto delle due varianti nella determinazione del fenotipo del paziente abbiamo quindi deciso di effettuare un'analisi trascrittomica sui fibroblasti del paziente per identificare i processi cellulari alterati. A questo scopo abbiamo ottenuto i fibroblasti da un prelievo di derma del paziente e fatto un'analisi RNAseq sull'RNA.

Abbiamo identificato 5180 geni diversamente espressi (DEG) nelle cellule del paziente rispetto al controllo: 2739 downregolati and 2441 upregolati. I geni identificati sono stati classificati sulla base della loro funzione e dei pathways in cui sono coinvolti effettuando un'analisi di arricchimento GO e KEGG. Sulla base di questa analisi i geni downregolati sono risultati essere coinvolti nel trasporto di proteine e vescicole, nell'autofagia, nell'apoptosi, nel metabolismo del colesterolo e nella risposta UPR. Al contrario, i geni upregolati sono risultati essere coinvolti nella traduzione, replicazione e riparo del DNA, nel ciclo cellulare e nel processamento dell'RNA. Inoltre questa analisi ha rivelato un alto numero di eventi di splicing alternativo che interessano tutti i geni diversamente espressi e che presumibilmente potrebbero essere dovuti ad alterazioni nel gene *HNRPNR*. I geni più significativi sono in corso di validazione tramite Real-Time.

Nell'ambito del laboratorio di Citogenetica, l'attività di ricerca si è indirizzata verso l'implementazione della tecnologia di Optical Genome Mapping (OGM). 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.

Per quanto riguarda l'Unità di bioinformatica nel corso del 2024, 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 diversi pazienti con encefalite, di cui 4 con encefalite erpetica. 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), DBP1, 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 2024 presso il laboratorio di Genetica e l'Unità di bioinformatica:**

- Eterogeneità genetica e meccanismi neurodegenerativi condivisi nelle paraparesi spastiche e sindromi atassico-spastiche con esordio in età evolutiva o giovane adulta. RC
- Ampliamento dei dati NGS mediante Optical Genome Mapping: verso un rilevamento più completo delle varianti nei bambini con disordini genetici rari irrisolti. RC
- Variabilità genetica e selezione naturale in sistemi di interesse biomedico Sottoprogetto1) - Caratterizzazione genetica di pazienti colpiti da encefalite/mielite di origine infettiva, autoimmune e ad eziologia ignota- Sottoprogetto2) Sequenziamento e variabilità genetica di virus endemici in relazione alla manifestazione fenotipica dell'ospite.RC
- Il ruolo della diversità genetica in EBV nella suscettibilità alla Sclerosi Multipla- 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
- Functional and clinical studies of lipid linked hereditary spastic paraplegia- RF-2019-12370112
- Creating next-generation databases to improve molecular diagnosis in neurodevelopmental disorders (PNRR-MR1-2023-12377843)
- Strategie terapeutiche per SPG11 – Hereditary Spastic Paraplegia Foundation

## **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.

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

Dott. Matteo Cereda - Department of Experimental Oncology, European Institute of Oncology (IEO), 20139 Milan, Italy

## ESTRATTO PUBBLICAZIONI- ANNO 2024

Bonanni Paolo, Giorda Roberto, Michelucci Roberto, Nobile Carlo, Dazzo Emanuela (2024);

*A de novo pathogenic variant in mical-1 causes epilepsy with auditory features;*

**Epilepsia Open**, 9(3):1083-1087

DOI: 10.1002/epi4.12937 I.F. 2023: 2,8

Bukvic Nenad, De Rinaldis Marta, Chetta Massimiliano, Trabacca Antonio, Bassi Maria Teresa, Marsano René Massimiliano, Holoubkova Lenka, Riviuccio Maria, Oro Maria, Resta Nicoletta, Kerkhof Jennifer, Sadikovic Bekim, Viggiano Luigi (2024);

*De novo pathogenic variant in Fbrsl1, non omim gene paralogue Aut2, Causes a novel recognizable syndromic manifestation with intellectual disability; an additional patient and review of the literature;*

**Genes**, 15:826

DOI: 10.3390/genes15070826 I.F. 2023: 2,8

Cagliani Rachele, Forni Diego, Mozzi Alessandra, Fuchs Rotem, Hagai Tzachi, Sironi Manuela (2024);

*Evolutionary analysis of zap and its cofactors identifies intrinsically disordered regions as central elements in host-pathogen interactions;*

**Computational and Structural Biotechnology Journal**, 23:3143-3154

DOI: 10.1016/j.csbj.2024.07.022 I.F. 2023: 4,5

Cagliani Rachele, Forni Diego, Mozzi Alessandra, Fuchs Rotem, Tussia-Cohen Dafna, Arrigoni Federica, Pozzoli Uberto, De Gioia Luca, Hagai Tzachi, Sironi Manuela (2024);

*Evolution Of Virus-like features and intrinsically disordered regions in retrotransposon-derived mammalian genes;*

**Molecular Biology and Evolution**, 41(8):msae154

DOI: 10.1093/molbev/msae154 I.F. 2023: 11,0

De Ritis Daniele, Ferrè Laura, De Winter Jonathan, Tremblay-Desbiens Clemence, Blais Mathieu, Bassi Maria Teresa, Dupré Nicolas, Filippi Massimo, Maltecca Francesca (2024);

*Reduction of sarsin levels in peripheral blood mononuclear cells as a diagnostic tool for spastic ataxia of charlevoix-saguenay;*

**Brain Communications**, 6(4):fcae243

DOI: 10.1093/braincomms/fcae243 I.F. 2023: 4,1

Decio Alice, Agarwal Nivedita, Panzeri Elena, Bassi Maria Teresa, D'Angelo Maria Grazia (2024);

*A new variant confirms gnai2 as a rare cause of periventricular nodular heterotopia;*

**Neurological Sciences**, 45(12):5985-5988 - Case Report

DOI: 10.1007/s10072-024-07764-6 I.F. 2023: 2,7

Decio Alice, Giorda Roberto, Panzeri Elena, Bassi Maria Teresa, D'Angelo Maria Grazia (2024);

*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**, 45(2):819-823 - Letter to the Editor

DOI: 10.1007/s10072-023-07102-2 I.F. 2023: 2,7

Decio Alice, Marelli Susan, Mambretti Fabiana, Bassi Maria Teresa, D'Angelo Maria Grazia (2024);

*A case of female-restricted wieacker-wolff syndrome with heart and endocrinological involvement;*

**Neurological Sciences**, 45(8):4077-4081 - Letter to the Editor

DOI: 10.1007/s10072-024-07457-0 I.F. 2023: 2,7

Errichiello Edoardo§, Lecca Mauro, Vantaggiato Chiara, Motta Zoraide, Zanotta Nicoletta, Zucca Claudio, Bertuzzo Sara, Piubelli Luciano, Pollegioni Loredano, Bonaglia Maria Clara§ (2024); *Further evidence supporting the role of gtdc1 in glycine metabolism and neurodevelopmental disorders*;

**European Journal of Human Genetics**, 32(8):920-927 – Case Report

§ co-corresponding authors

DOI: 10.1038/s41431-024-01603-0 I.F. 2023: 3,7

Forni Diego, Mozzi Alessandra, Sironi Manuela, Cagliani Rachele (2024);

*Positive selection drives the evolution of the structural maintenance of chromosomes (smc) complexes*;

**Genes**, 15(9):1159

DOI: 10.3390/genes15091159 I.F. 2023: 2,8

Forni Diego, Pozzoli Uberto, Cagliani Rachele, Sironi Manuela (2024);

*Dinucleotide biases in the genomes of prokaryotic and eukaryotic dsDNA viruses and their hosts*;

**Molecular Ecology**, 33(6):e17287

DOI: 10.1111/mec.17287 I.F. 2023: 4,5

Forni Diego, Pozzoli Uberto, Mozzi Alessandra, Cagliani Rachele, Sironi Manuela (2024);

*Depletion of cpg dinucleotides in bacterial genomes may represent an adaptation to high temperatures*; *nar*

**Genomics and Bioinformatics**, 6(3):lqae088

DOI: 10.1093/nargab/lqae088 I.F. 2024: 4,0

Molteni Cristian, Forni Diego, Cagliani Rachele, Sironi Manuela (2024);

*Comparative genomics reveal a novel phylotaxonomic order in the genus fusobacterium*;

**Communications Biology**, 7(1):1102

DOI: 10.1038/s42003-024-06825-y I.F. 2023: 5,2

Panagiotakaki Eleni\*, Tiziano Francesco Danilo\*, Mikati Mohamad A.\*, Vijfhuizen Lisanne S., Nicole Sophie, Lesca Gaetan, Abiusi Emanuela, Novelli Agnese, Di Pietro Lorena, I.B.AHC Consortium (Bassi Maria Teresa, Zucca Claudio), IAHCRC Consortium (Bassi Maria Teresa, Zucca Claudio), Harder Aster V.E., Walley Nicole M., De Grandis Elisa, Poulat Anne-Lise, Des Portes Vincent, Lepine Anne, Nassogne Marie-Cecile, Arzimanoglou Alexis, Vavassori Rosaria, Koenderink Jan, Thompson Christopher H., George Alfred L. Jr, Gurrieri Fiorella, Van Den Maagdenberg Arn M.J.M.^§, Heinzen Erin L.^§ (2024);

*Exome sequencing of atpla3-negative cases of alternating hemiplegia of childhood reveals scn2a as a novel causative gene*;

**European Journal of Human Genetics**, 32(2):224-231

\* Autori che hanno contribuito in ugual misura al lavoro

^ co-last authors

§ co-corresponding authors

DOI: 10.1038/s41431-023-01489-4 I.F. 2023: 3,7

Pasca Ludovica, Politano Davide, Cavallini Anna, Panzeri Elena, Vigone Maria Cristina, Baldoli Cristina, Abbate Marco, Kullman Gaia, Marelli Susan, Pozzobon Gabriella, Vincenzi Gaia, Nacinovich Renata, Bassi Maria Teresa, Romaniello Romina (2024);

*A novel de novo heterozygous mutation in the son gene associated to septo-optic dysplasia: a new phenotype?*;

**Neuropediatrics**, 55(3):191-195 - Case Report

DOI: 10.1055/a-2114-4387 I.F. 2023: 1,1

Pozzi Marco\*, Vantaggiato Chiara\*, Brivio Francesca, Orso Genny, Bassi Maria Teresa (2024); *Olanzapine, risperidone and ziprasidone differently affect lysosomal function and autophagy, reflecting their different metabolic risk in patients;*

**Translational Psychiatry**, 13(14):13

\* Autori che hanno contribuito in ugual misura al lavoro

DOI: 10.1038/s41398-023-02686-x I.F. 2023: 5,8

Tessa Alessandra, Schifino Mariapaola, Salvo Eliana, Trovato Rosanna, Cesana Luca, Frosini Silvia, Pasquariello Rosa, Sgherri Giada, Battini Roberta, Bonaglia Maria Clara, Santorelli Filippo Maria, Astrea Guja (2024);

*Small complex rearrangement in hint1-related axonal neuropathy;*

**Genes**, 15:1483 – Case Report

DOI: 10.3390/genes15111483 I.F. 2023: 2,8

Zanotta Nicoletta, Panzeri Elena, Minghetti Sara, Citterio Andrea, Giorda Roberto, Marelli Susan, Bassi Maria Teresa^, Zucca Claudio^ (2024);

*A case of childhood onset developmental encephalopathy with a novel de novo truncating variant in the membrane protein palmitoylated 5 (Mpp5) GENE; Seizure –*

**European Journal of Epilepsy**, 116:151-155 - Short Communication

^ co-last authors

DOI: 10.1016/j.seizure.2023.01.015 I.F. 2023: 2,7

“Centro Dino Ferrari”  
Il Coordinatore Scientifico  
Prof. Giacomo Pietro Comi

