



**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**

### **2020**

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

LABORATORIO DI BIOCHIMICA, GENETICA E COLTURE CELLULARI	Pag. 3
LABORATORIO DI NEUROIMMUNOLOGIA CLINICA	Pag. 27
LABORATORIO CELLULE STAMINALI NEURALI	Pag. 35
U.O.S.D. MALATTIE NEUROMUSCOLARI E RARE	Pag. 53
U.O.S.D. MALATTIE NEURODEGENERATIVE	Pag. 61
LABORATORIO PARKINSON E ALTRI DISTURBI DEL MOVIMENTO	Pag. 73
U.O.S. STROKE UNIT	Pag. 81
LABORATORIO DI CELLULE STAMINALI	Pag. 87
SEDE DISTACCATA DEL “CENTRO DINO FERRARI” PRESSO U.O.NEUROLOGIA – STROKE UNIT E LABORATORIO DI NEUROSCIENZE UNIVERSITA’ DEGLI STUDI DI MILANO I.R.C.C.S. ISTITUTO AUXOLOGICO ITALIANO	Pag. 99
SEDE DISTACCATA DEL CENTRO “DINO FERRARI” PRESSO IL LABORATORIO DI BIOLOGIA MOLECOLARE, CITOGNETICA, ANALISI BIOCHIMICO-CLINICHE, BIOINFORMATICA- IRCCS E. MEDEA	Pag. 131
ELENCO PUBBLICAZIONI 2020	Pag. 141

# **LABORATORIO DI BIOCHIMICA E GENETICA DELLE MALATTIE NEUROMUSCOLARI**

## **RESPONSABILE**

Prof. Giacomo Pietro Comi

## **MEDICI**

Prof. Stefania Corti

Dott. Francesca Magri

Dott. Alessandra Govoni

Dott. Daniele Velardo

Dott. Megi Meneri

Dott. Roberta Brusa

Dott. Eleonora Mauri

## **BIOLOGI**

Dott. Roberto Del Bo

Dott. Sabrina Lucchiari

Dott. Daniela Piga

## **BIOTECNOLOGI**

Prof. Dario Ronchi

Dott. Serena Pagliarani

## **TECNICI**

Sig. Francesco Fortunato

Sig. Manuela Garbellini

Il Laboratorio di Biochimica e Genetica delle Malattie Neuromuscolari fa parte dell'UOC Neurologia della Fondazione Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico di Milano ed è sito all'interno della Fondazione in via Francesco Sforza 35. Gli spazi del laboratorio comprendono un'area di 450 mq al piano terra ed al piano seminterrato del Padiglione Ex-Convitto Suore (Direzione Medica di Presidio) e i locali adibiti ad estrazione di DNA ed analisi di sequenza ubicati presso il Padiglione Invernizzi.

La missione del Laboratorio è la definizione delle cause biochimiche e genetiche di un ampio gruppo di patologie neurologiche, ed in particolare alcune forme di malattie genetiche neuromuscolari che comprendono, tra le altre, le Distrofinopatie (Distrofia Muscolare di Duchenne e Becker, DMD e BMD), le Distrofie Muscolari dei cingoli (Limb Girdle Muscular Dystrophy, LGMD), le Miopatie Congenite (CM), le miopatie metaboliche con alterazione del metabolismo glucidico (es. Glicogenosi), lipidico e del metabolismo ossidativo (es. Malattie Mitocondriali), le malattie neurodegenerative del motoneurone ad esordio infantile (es. Amiotrofia Spinale SMA5q) ed adulto (es. Sclerosi Laterale Amiotrofica). L'incidenza di queste patologie seppur variabile è comunque inferiore a 1:10000 (malattie rare). Il Laboratorio è punto di riferimento per l'analisi di alcune forme rarissime (neglette) di patologie neuromuscolari dell'infanzia come l'Amiotrofia Spinale con Distress Respiratorio (SMARD1, 1:100.000) e l'Amiotrofia Spinale con Epilessia Mioclonica Progressiva (SMA-PME, 1:1.000.000). Complessivamente le forme monogeniche di malattia neuromuscolare diagnosticate nel Laboratorio sono 55, 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 antisenso) 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.

Stiamo proseguendo l'approfondimento diagnostico di un gruppo di 11 casi familiari in cui l'approccio standard diagnostico non ha consentito di identificare un difetto molecolare chiaramente causativo del fenotipo in esame. Tra i fenotipi analizzati abbiamo: malattie neurodegenerative (n=5) con interessamento prevalente o specifico del motoneurone o del cervelletto, miopatie congenite (n=2), miopatie distali (n=2), un caso di miopatie mitocondriale familiare e un caso di meningiomasosi familiare.

Una diagnosi molecolare definitiva è stata raggiunta finora in 5 casi indipendenti (45%) e varianti candidate sono state identificate in 2 famiglie addizionali. Tra le diagnosi fino a questo momento acquisite abbiamo l'identificazione di nuove mutazioni nel gene TTN (proteina muscolare Titina) in un caso di miopatia congenita, nuove mutazioni nel gene COL6A2 in una forma lieve di miopatia di Bethlehem (la prima diagnosi molecolare per questa condizione ottenuta nel nostro centro), l'identificazione di un nuovo caso di miopatia mitocondriale con accumulo di delezione multiple associato a mutazioni recessive nel gene MGME1 (il quinto caso descritto dopo il lavoro seminale a cui aveva partecipato il nostro Centro e culminato nella pubblicazione del gene malattia su Nature Genetics nel 2013), l'identificazione di difetti molecolari in casi di atassia a trasmissione autosomica recessiva. (vedi sotto).

Nel corso del 2020 abbiamo consolidato la ricerca delle cause molecolari di patologie neuromuscolari grazie all'uso di tecnologie di sequenziamento di nuova generazione (NGS).

## **1) Distrofie Muscolari**

### **1.1) Applicazione di un pannello multigenico per l'analisi NGS (sequenziamento di nuova generazione) di pazienti con distrofie muscolari dei cingoli.**

Le malattie neuromuscolari ereditarie sono condizioni associate a disordini del motoneurone, del nervo, della giunzione neuromuscolare o del muscolo scheletrico. Si tratta di un gruppo di patologie che, data la bassa incidenza sulla popolazione, vengono classificate come malattie rare.

La loro eterogeneità fenotipica è il riflesso di un'impressionante variabilità genetica. Per questo motivo, l'approccio NGS descritto in questa tesi è potenzialmente utile per definire gli aspetti molecolari alla base delle tante forme di malattie neuromuscolari che includono: Miopatie, Miotonie, Distrofie Muscolari, Glicogenosi e Canalopatie muscolari che costituiscono il campo di indagine degli ambulatori specialistici di Neurologia di secondo livello che si interessano allo studio di queste malattie ed alla cura dei relativi pazienti.

Per migliorare il tasso diagnostico in un gruppo di 50 pazienti afferenti al Centro Dino Ferrari dell'Università di Milano presso il Policlinico di Milano ho applicato un pannello multigenico (Gene Panel Sequencing) in grado di sequenziare simultaneamente circa 50 geni associati a queste condizioni. A partire dal DNA genomico sono state allestite le librerie di sequenza secondo una chimica basata sull'uso di ampliconi (Agilent HaloPlex). Le varianti priorizzate sono state sottoposte ad un processo di validazione informatica per identificare elementi di patogenicità e successivamente classificate secondo le linee guida dell'American College of Medical Genetics and Genomics e verificate nei membri del gruppo familiare, se disponibili. Infine, nel caso di malattie recessive, l'identificazione di una mutazione causativa monoallelica mi ha portato ad estendere l'indagine molecolare usando una tecnica di analisi quantitativa del DNA basata su ibridazione (MLPA) in un gruppo selezionato di pazienti.

Dopo aver messo a punto il pannello e validato la sua utilità in una coorte di pazienti già diagnosticati nel corso del precedente anno, nel 2020 abbiamo applicato questa tecnica di indagine a 70 pazienti affetti da varie forme di malattia muscolare.

L'analisi delle varianti identificate dopo de-multiplexing e allineamento con il genoma di riferimento ha consentito di stabilire una diagnosi probabile o certa in 34 soggetti (48%). Una diagnosi definitiva è stata raggiunta in 28 casi. Le analisi condotte sul muscolo dei pazienti, gli studi di segregazione nei familiari disponibili e la precedente descrizione delle varianti in letteratura ha confermato la patogenicità delle mutazioni individuate. In 6 casi le indagini molecolari e biochimiche per la verifica della patogenicità delle varianti trovate sono attualmente in corso. Stiamo scrivendo una serie di manoscritti per riassumere i risultati dei casi più interessanti che hanno ricevuto una diagnosi molecolare grazie a questo approccio.

Questo studio testimonia l'elevata capacità diagnostica del nostro approccio che combina le più recenti tecniche di genetica molecolare con le tradizionali metodiche biochimiche e immunocitochimiche per la validazione dei risultati.

## **1.2) Nuove correlazioni genotipo-fenotipo in un'ampia coorte di pazienti europei affetti da sarcoglicanopatia.**

Le sarcoglicanopatie costituiscono un sottogruppo di distrofie muscolari dei cingoli a trasmissione autosomica recessiva causate da mutazioni in quattro geni: SGCA, SGCB, SGCG, SGCD. Nel 2016 è stato creato il Consorzio Europeo per lo Studio delle Sarcoglicanopatie che riunisce i medici coinvolti nella diagnosi e nella cura dei pazienti affetti da queste forme di distrofia muscolare. In questo studio osservazionale retrospettivo, pubblicato sull'importante rivista *Brain*, è presentato il quadro clinico e genetico dei pazienti europei affetti da sarcoglicanopatia. I dati sono stati raccolti da 33 centri per lo studio delle malattie neuromuscolari appartenenti a 13 diversi paesi europei e comprendono i record di 439 pazienti. I sottotipi di sarcoglicanopatia mostrano una prevalenza per i casi di deficit di alfa-sarcoglicano (159) e gamma-sarcoglicano (157) mentre i casi con deficit di beta-sarcoglicano sono 73. Solo 7 i casi con mutazioni nel gene SGCD. I pazienti con mutazioni in SGCA mostrano un esordio più tardivo ed una progressione più lenta della malattia. Il coinvolgimento cardiaco predomina nei pazienti con deficit di beta-sarcoglicano. Alcune

mutazioni sono ricorrenti e possono essere considerate frequenti nella popolazione di pazienti con sarcoglicanopatie. Un esordio clinico prima dei 10 anni e una quantità di proteina residua inferiore al 30% sono fattori di rischio indipendenti per la perdita di deambulazione prima della vita adulta nei pazienti con mutazioni in SGCA, SGCB e SGCG. Il miglioramento della conoscenza delle caratteristiche cliniche e delle correlazioni tra genotipo e fenotipo è importante per il disegno di studi di storia naturale e per la messa a punto di trial clinici efficaci per valutare le terapie sperimentali che si renderanno presto disponibili per i pazienti con sarcoglicanopatia.

Alonso-Pérez J, González-Quereda L, Bello L, Guglieri M, Straub V, Gallano P, Semplicini C, Pegoraro E, Zangaro V, Nascimento A, Ortez C, Comi GP, Dam LT, De Visser M, van der Kooi AJ, Garrido C, Santos M, Schara U, Gangfuß A, Løkken N, Storgaard JH, Vissing J, Schoser B, Dekomien G, Udd B, Palmio J, D'Amico A, Politano L, Nigro V, Bruno C, Panicucci C, Sarkozy A, Abdel-Mannan O, Alonso-Jimenez A, Claeys KG, Gomez-Andrés D, Munell F, Costa-Comellas L, Haberlová J, Rohlenová M, Elke V, De Bleecker JL, Dominguez-González C, Tasca G, Weiss C, Deconinck N, Fernández-Torrón R, López de Munain A, Camacho-Salas A, Melegh B, Hadzsiev K, Leonardis L, Koritnik B, Garibaldi M, de Leon-Hernández JC, Malfatti E, Fraga-Bau A, Richard I, Illa I, Díaz-Manera

*J. New genotype-phenotype correlations in a large European cohort of patients with sarcoglycanopathy.*

**Brain.** 2020 Sep 1;143(9):2696-2708. doi: 10.1093/brain/awaa228. PMID: 32875335. **IF = 11,337**

### **1.3) Meta-analisi degli studi clinici in coorti di pazienti con Distrofia Muscolare di Duchenne trattati con Ataluren.**

In questa meta-analisi sono stati considerati i trial clinici fin qui eseguiti nei pazienti affetti da Distrofia Muscolare di Duchenne in trattamento farmacologico con Ataluren (PTC124), un farmaco che, promuovendo lo *stop codon reading throug* può consentire la traduzione della distrofina anche in presenza di mutazioni che generano codoni di STOP prematuri. Il cambiamento al test del cammino per sei minuti è risultato significativo alla settimana 48 rispetto alla condizione di base e la significatività sembra confermata nei vari sottogruppi considerati nello studio. Il beneficio del trattamento sembra più evidente nei pazienti che preservano una capacità di camminare compresa tra i 300 e i 400 m nel corso di 6 minuti, un dato informativo per il disegno dei futuri trial clinici. In conclusione, questi dati confermano l'efficacia del farmaco Ataluren nel modificare la progressione della malattia in pazienti con Distrofia Muscolare di Duchenne.

Campbell C, Barohn RJ, Bertini E, Chabrol B, Comi GP, Darras BT, Finkel RS, Flanigan KM, Goemans N, Iannaccone ST, Jones KJ, Kirschner J, Mah JK, Mathews KD, McDonald CM, Mercuri E, Nevo Y, Péreón Y, Renfro JB, Ryan MM, Sampson JB, Schara U, Sejersen T, Selby K, Tulinius M, Vélchez JJ, Voit T, Wei LJ, Wong BL, Elfring G, Souza M, McIntosh J, Trifillis P, Peltz SW, Muntoni F; PTC124-GD-007-DMD Study Group; ACT DMD

*Study Group; Clinical Evaluator Training Groups. Meta-analyses of ataluren randomized controlled trials in nonsense mutation Duchenne muscular dystrophy.*

**J Comp Eff Res.** 2020 Oct;9(14):973-984. doi: 10.2217/ce-2020-0095. Epub 2020 Aug 27. PMID: 32851872. **IF = 2,268**

#### **1.4) Verifica della validità dell'uso di controlli esterni negli studi farmacologici in pazienti con Distrofia Muscolare di Duchenne.**

In questo studio multicentrico abbiamo voluto valutare se i dati emersi dagli studi clinici (real world data) e i dati di storia naturale possono essere efficacemente usati come controlli esterni per la valutazione degli effetti farmacologici in pazienti deambulanti con Distrofia Muscolare di Duchenne. Questa analisi ha incluso 1200 pazienti negli anni di follow-up. Le differenze nel test del cammino a 6 minuti tra i bracci dei clinical trial trattati con placebo e i dati degli scenari reali o delle coorti di storia naturale vanno dai 19,4 ai 19,5 metri e non sono risultate significative da un punto di vista statistico. Questa osservazione conferma che la differenza nel test del cammino a 6 minuti tra i pazienti trattati con placebo e i pazienti soggetti ai criteri di inclusione ed esclusione degli studi di storia naturale è reale e supporta l'utilizzo dei dati di storia naturale o quelli raccolti in precedenti studi clinici come fonte di dati per aumentare o sostituire i controlli-placebo dei trial clinici per la Distrofia Muscolare di Duchenne.

Goemans N, Signorovitch J, Sajeev G, Yao Z, Gordish-Dressman H, McDonald CM, Vandenborne K, Miller D, Ward SJ, Mercuri E; *investigators from PRO-DMD-01 Study, CINRG DNHS, ImagingDMD, and the DMD Italian Group. Suitability of external controls for drug evaluation in Duchenne muscular dystrophy. Neurology.* 2020 Sep 8;95(10):e1381-e1391. doi: 10.1212/WNL.0000000000010170. Epub 2020 Jul 1. PMID: 32611643; PMCID: PMC7538219. **IF = 8,055**

#### **1.5) Nuove mutazioni nel gene LAMA2 associate a distrofia muscolare dei cingoli**

Mutazioni nel gene LAMA2, che codifica per la proteina merosina, sono generalmente responsabili di una grave forma di distrofia congenita (CMD tipo 1A) caratterizzata da grave debolezza muscolare, assenza di merosina nel muscolo e alterazioni nella sostanza bianca osservate alla risonanza magnetica. Recentemente mutazioni nello stesso gene sono state associate ad una forma recessiva di distrofia muscolare dei cingoli (R23) ma solo pochi casi con un esordio adulto ed un andamento lentamente progressivo associati ad una parziale riduzione della merosina sono stati fino a questo momento descritti. In questo lavoro abbiamo descritto le caratteristiche cliniche istologiche e molecolari di 5 pazienti italiani che presentano una forma di debolezza dei cingoli progressiva, anomalie della sostanza bianca e deficit di merosina in associazione a mutazioni nel gene LAMA2. In tutto abbiamo identificato sette differenti mutazioni, 6 delle quali nuove. Tutti i pazienti hanno mostrato un normale sviluppo psicomotorio, e debolezza lentamente progressiva con un esordio ad una età compresa tra l'adolescenza e la quarta decade. I livelli di creatina chinasi erano moderatamente elevati. Un paziente ha mostrato una cardiomiopatia dilatativa. La risonanza del muscolo ci ha consentito di valutare il grado e le caratteristiche del coinvolgimento muscolare in tutti i pazienti. Anche la risonanza dell'encefalo ci ha aiutato ad indirizzare la diagnosi genetica e allo stesso tempo implica nella patologia il sistema nervoso centrale: sintomi neurologici come epilessia ed emicrania sono stati identificati in 3 pazienti. La biopsia muscolare ha mostrato alterazioni distrofiche, anche se non in tutti i pazienti, mentre l'analisi western blot è in genere più accurata nel documentare la riduzione dei livelli di merosina. Grazie a questo studio abbiamo ampliato lo spettro clinico delle malattie legate a mutazioni in LAMA2. Il coinvolgimento del sistema nervoso centrale spinge a monitorare anche questo aspetto nei follow-up di controllo dei pazienti distrofici con mutazioni in LAMA2 e in quelli ancora privi di una diagnosi molecolare.

Magri F, Brusa R, Bello L, Peverelli L, Del Bo R, Govoni A, Cinnante C, Colombo I, Fortunato F, Tironi R, Corti S, Grimoldi N, Sciacco M, Bresolin N, Pegoraro E, Moggio M, Comi GP.



*Limb girdle muscular dystrophy due to LAMA2 gene mutations: new mutations expand the clinical spectrum of a still challenging diagnosis.*

**Acta Myol.** 2020 Jun 1;39(2):67-82. doi: 10.36185/2532-1900-009. PMID: 32904964; PMCID: PMC7460730.

#### **1.6) Gli RNA non codificanti nelle distrofie muscolari di Duchenne e Becker: ruolo nella patogenesi e prospettive prognostiche e terapeutiche.**

Gli RNA non codificanti (ncRNA), come i microRNA (miRNA) e gli RNA lunghi non codificanti, sono regolatori chiave dell'espressione genica a livello post-trascrizionale e rappresentano promettenti bersagli terapeutici e biomarcatori per diverse malattie umane, comprese le distrofie muscolari di Duchenne e di Becker (DMD/BMD). È stato suggerito un ruolo dei ncRNA nella patogenesi delle distrofie muscolari, anche se il meccanismo non è ancora del tutto compreso. Qui, discutiamo i progressi attuali che portano verso l'utilizzo clinico dei ncRNA per DMD/BMD. Gli RNA lunghi e corti non codificanti sono espressi in modo differenziale in DMD/BMD e il loro meccanismo d'azione è colpire gli mRNA. Un sottoinsieme di miRNA specifici dei muscoli, i cosiddetti miomiRNA (miR-1, miR-133 e miR-206), sono aumentati nel siero dei pazienti con DMD e nei modelli animali con distrofina difettiva. È interessante osservare che i miomiRNA potrebbero essere usati come biomarcatori, dato che i loro livelli possono essere ristabiliti dopo il ripristino della distrofina nei modelli murini distrofici. Sorprendentemente, ulteriori prove dimostrano che anche i ncRNA svolgono un ruolo nell'espressione della distrofina; quindi, le loro modulazioni potrebbero rappresentare una potenziale strategia terapeutica con l'obiettivo di esprimere maggiormente la proteina distrofina in combinazione con altri approcci di terapia genica o con oligonucleotidi.

Brusa R, Magri F, Bresolin N, Comi GP, Corti S. Noncoding RNAs in Duchenne and Becker muscular dystrophies:

*role in pathogenesis and future prognostic and therapeutic perspectives. Cell Mol Life Sci.* 2020 Nov;77(21):4299-4313. doi: 10.1007/s00018-020-03537-4.

**Epub** 2020 Apr 29. PMID: 32350552. **IF = 6,496**

#### **1.7) Espansione dello spettro clinico e genetico associato a mutazioni recessive nel gene MYH2.**

Le miosinopatie ereditarie costituiscono un gruppo di rare malattie muscolari, causate da mutazioni nei geni che codificano per le catene pesanti della miosina scheletrica. La subunità MyHCIIa è codificata dal gene MYH2 ed è espressa nelle fibre veloci di tipo 2A e 2B. Mutazioni in MYH2 sono responsabili di una forma di miopatia progressiva autosomica dominante, caratterizzata dalla presenza di vacuoli e dalla riduzione delle dimensioni e del numero delle fibre 2A e di una forma di miopatia ad esordio precoce e trasmissione autosomica recessiva caratterizzata dalla completa perdita di fibre di tipo 2A. Molto recentemente è stato descritto un paziente con una mutazione omozigote in associazione ad un fenotipo dominante. In questo lavoro descriviamo il secondo caso con caratteristiche istopatologiche tipiche della forma dominante ma con un genotipo recessivo nel gene MYH2. Le caratteristiche cliniche del nostro paziente includono: oftalmoparesi lievi ad esordio tardivo, ptosi e debolezza muscolare. Questo studio contribuisce ad espandere lo spettro clinico e genetico delle forme di miopatia associate a mutazioni nel gene MYH2.

Telese R, Pagliarani S, Lerario A, Ciscato P, Fagiolari G, Cassandrini D, Grimoldi N, Conte G, Cinnante C, Santorelli FM, Comi GP, Sciacco M, Peverelli L.

*MYH2 myopathy, a new case expands the clinical and pathological spectrum of the recessive form. Mol Genet Genomic Med.* 2020 Sep;8(9): e1320. doi: 10.1002/mgg3.1320. **Epub** 2020 Jun 24. PMID: 32578970; PMCID: PMC7507101. **IF = 2,797**

### **1.8) Studio dei modificatori genetici e del loro effetto sulla funzione respiratoria nella Distrofia Muscolare di Duchenne.**

L'insufficienza respiratoria è una grave complicanza nei pazienti con Distrofia Muscolare di Duchenne. La sua progressione mostra una importante variabilità interindividuale che è stata meno esplorata e compresa rispetto al muscolo scheletrico. In questo studio multicentrico abbiamo raccolto i dati sulla funzionalità polmonare da una grande coorte di pazienti coinvolti nel network italiano per lo studio sulla Distrofia Muscolare di Duchenne. Inoltre, abbiamo analizzato l'associazione tra i dati della funzione respiratoria con le mutazioni nel gene DMD e con varianti nei geni SPP1, LTBP4, CD40 e ACTN3 conosciute come modificatori genetici della debolezza muscolare nella popolazione Duchenne. Abbiamo quindi eseguito la validazione di questi studi di associazione mediante le coorti indipendenti del gruppo internazionale per lo studio della storia naturale delle malattie di Duchenne.

Sono stati raccolti dati da 327 pazienti italiani con Distrofia muscolare di Duchenne raccolti in un periodo medio di follow-up di 4 anni e mezzo. In questo periodo è stato monitorato il calo della funzione respiratoria. Abbiamo anche osservato che il trattamento con glucocorticoidi è in grado di migliorare tutti i parametri della funzione respiratoria con un incremento del 15% nelle varie fasi della malattia. Le mutazioni situate dopo l'introne 44 del gene DMD e predette alterare l'espressione delle isoforme della micro-distrofina sono risultate associate a punteggi respiratori più bassi, un dato validato anche nella coorte internazionale. Le delezioni degli esoni 51 e 53 che possono essere oggetto di *exon skipping* sono parimenti state associate ad una peggiore funzione respiratoria nelle due coorti. Una metanalisi delle due coorti ha inoltre identificato l'effetto negativo sulla funzionalità respiratoria di due polimorfismi presenti nei geni SPP1 (rs28357094) e CD40 (rs1883832).

Questo studio supporta l'efficacia della terapia con corticosteroidi nel rallentare l'insufficienza respiratoria. I dati raccolti potranno essere utili per il disegno e l'interpretazione di trial clinici mirati al miglioramento della funzione respiratoria nei pazienti con distrofia muscolare di Duchenne.

Bello L, D'Angelo G, Villa M, Fusto A, Vianello S, Merlo B, Sabbatini D, Barp A, Gandossini S, Magri F, Comi GP, Pedemonte M, Tacchetti P, Lanzillotta V, Trucco F, D'Amico A, Bertini E, Astrea G, Politano L, Masson R, Baranello G, Albamonte E, De Mattia E, Rao F, Sansone VA, Previtali S, Messina S, Vita GL, Berardinelli A, Mongini T, Pini A, Pane M, Mercuri E, Vianello A, Bruno C, Hoffman EP, Morgenroth L, Gordish-Dressman H, McDonald CM;

CINRG-DNHS Investigators, Pegoraro E.

*Genetic modifiers of respiratory function in Duchenne muscular dystrophy.*

**Ann Clin Transl Neurol.** 2020 May;7(5):786-798. doi: 10.1002/acn3.51046. Epub 2020 Apr 28. PMID: 32343055; PMCID: PMC7261745. **IF = 4,870**

### **1.9) Il panorama genetico italiano delle mutazioni nel gene della distrofina.**

Le distrofinopatie sono malattie ereditarie causate da mutazioni nel gene DMD che codifica per la proteina distrofina. Il test genetico è necessario per la diagnosi genetica di queste condizioni, il counselling genetico e lo sviluppo di trial clinici personalizzati. In questo studio multicentrico abbiamo rivisto i dati genetici della coorte italiani di pazienti con distrofinopatie associate a mutazioni nel gene DMD. Sono stati raccolti i dati di 1902 pazienti: 740 con Distrofia Muscolare di Becker e 1162 con Distrofia Muscolare di Duchenne. Lo studio ha coinvolto 11 centri italiani per la diagnosi di queste condizioni in un arco temporale di 10 anni (dal 2008 al 2017). Nei pazienti Duchenne abbiamo identificato delezioni nel 57% dei casi, duplicazioni nell'11% e piccole mutazioni nel 32% dei casi. Nei pazienti con Distrofia Muscolare di Becker le relative percentuali sono invece risultate essere di: 78%, 9% e 13%. Questo dimostra che le delezioni sono predominanti nei pazienti Becker rispetto ai Duchenne.

Inoltre, nei pazienti Becker l'impatto mutazionale delle varianti puntiformi è superiore alle duplicazioni. Tra le mutazioni puntiformi che sono generalmente frequenti nei due fenotipi il 44% (Duchenne) e il 36% (Becker) sono mutazioni non senso che possono essere bersaglio delle terapie per la lettura dei codoni di stop mentre il 63% di tutte le delezioni con alterazioni nel frame di lettura possono essere oggetto di *exon skipping* per singolo esone. I pazienti hanno anche mostrato una interessante differenza nello spettro mutazionale a seconda delle regioni di origine. Questo studio ci ha consentito di trarre numerose conclusioni sull'eterogeneità e la frequenza delle mutazioni nei pazienti italiani con distrofinopatie e l'impatto di queste varianti sui relativi domini proteici della distrofina. Queste informazioni saranno utili per migliorare gli studi clinici di medicina personalizzata attualmente in corso.

Neri M, Rossi R, Trabanelli C, Mauro A, Selvatici R, Falzarano MS, Spedicato N, Margutti A, Rimessi P, Fortunato F, Fabris M, Gualandi F, Comi G, Tedeschi S, Seia M, Fiorillo C, Traverso M, Bruno C, Giardina E, Piemontese MR, Merla G, Cau M, Marica M, Scuderi C, Borgione E, Tessa A, Astrea G, Santorelli FM, Merlini L, Mora M, Bernasconi P, Gibertini S, Sansone V, Mongini T, Berardinelli A, Pini A, Liguori R, Filosto M, Messina S, Vita G, Toscano A, Vita G, Pane M, Servidei S, Pegoraro E, Bello L, Travaglini L, Bertini E, D'Amico A, Ergoli M, Politano L, Torella A, Nigro V, Mercuri E, Ferlini A.

*The Genetic Landscape of Dystrophin Mutations in Italy: A Nationwide Study.*

**Front Genet.** 2020 Mar 3;11:131. doi: 10.3389/fgene.2020.00131. PMID: 32194622; PMCID: PMC7063120. **IF = 3,789**

## **2) Malattie mitocondriali, miopatie metaboliche e altre miopatie.**

### **2.1) Definizione delle misure di outcome in una coorte di pazienti italiani affetti da miopatia mitocondriale primaria.**

Le malattie mitocondriali costituiscono il più frequente difetto del metabolismo causato da mutazioni in geni nucleari o in geni che appartengono al DNA mitocondriale. La miopatia mitocondriale può essere il sintomo iniziale ed isolato o può presentarsi in associazione ad altre caratteristiche come la sordità, la polineuropatia, l'atassia, episodi *stroke-like*, diabete, coinvolgimento epatico o renale. Le miopatie mitocondriali primarie sono malattie genetiche definite in cui un difetto nella fosforilazione ossidativa colpisce, in modo preminente ma non esclusivo, il muscolo scheletrico. In questo lavoro collaborativo all'interno del network italiano per lo studio delle malattie mitocondriali abbiamo voluto determinare quali test funzionali, scale cliniche, questionari a compilazione del paziente e biomarcatori fossero una affidabile misura di outcome in un gruppo di 118 pazienti italiani con una forma di miopatia mitocondriale primaria. Le misure funzionali sono risultate tutte chiaramente distinguibili nel gruppo malattia rispetto al gruppo controllo e sono risultate in accordo con la fatica e la gravità del dolore percepiti dal paziente. I pazienti con mutazioni puntiformi nel DNA mitocondriale o nucleare presentano un andamento clinico peggiore rispetto ai pazienti con macro-delezioni nel DNA mitocondriale, sebbene questi ultimi manifestino un esordio più precoce, pur con la stessa durata di malattia. I livelli delle miochine FGF-21 e GDF-15 sono risultate più alti nei pazienti rispetto ai controlli ma non sembrano essere in relazione con la gravità dei sintomi. In conclusione, questo lavoro ha identificato i valori di baseline di un ampio numero di parametri in pazienti affetti da miopatia mitocondriale primaria e ha definito le scale e le misure di outcome principali per il monitoraggio dell'efficacia di futuri trattamenti che si renderanno disponibili attraverso specifici trial clinici. Questi elementi saranno successivamente ri-valutati per definire la storia naturale di queste forme di malattia mitocondriale.

Montano V, Gruosso F, Carelli V, Comi GP, Filosto M, Lamperti C, Mongini T, Musumeci O, Servidei S, Tonin P, Toscano A, Modenese A, Primiano G, Valentino ML, Bortolani S, Marchet S, Meneri M, Tavilla G, Siciliano G, Mancuso M.

*Primary mitochondrial myopathy: Clinical features and outcome measures in 118 cases from Italy.*

**Neurol Genet.** 2020 Oct 20;6(6): e519. doi: 10.1212/NXG.0000000000000519. eCollection 2020 Dec. PMID: 33209982 Free PMC article. **IF = 3,509**

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

Nel corso del 2020 abbiamo concluso la caratterizzazione molecolare e biochimica di una causa familiare di sindrome distonico-atassica a lenta progressione, il cui difetto genetico (mutazioni bi-alleliche nel gene mitocondriale ECHS1) erano state identificate mediante Whole Exome Sequencing. L'analisi di sequenziamento NGS dell'esoma ha evidenziato due varianti nel gene ECHS1 che codifica per l'enoil-coA reductasi mitocondriale coinvolta sia nel metabolismo degli amminoacidi ramificati che in una fase iniziale della ossidazione degli acidi grassi a catena corta. Mutazioni in questo gene erano state in precedenza associate a gravi encefalopatie pediatriche simili alla Sindrome di Leigh. Abbiamo caratterizzato le varianti trovate a livello trascrizionale (RT-PCR, qRT-PCR), proteico (SDS-PAGE) e biochimico (dosaggio spettrofotometrico dell'attività biochimica residua delle crotonasi seguendo la scomparsa del picco del substrato). Le cellule ottenute dalle pazienti sono state impiegate per studi di immunocitochimica per chiarire la localizzazione della proteina mutata e gli effetti delle mutazioni sulla omeostasi mitocondriale. Abbiamo anche silenziato il gene ECHS1 in cellule controllo ed eseguito esperimenti provocativi con somministrazione di valina nel medium di coltura che hanno confermato l'attivazione della apoptosi conseguente ad una dissipazione del potenziale di membrana mitocondriale. Non si sono invece osservati differenze nell'accumulo intracellulare di acidi grassi, escludendo che la patogenesi della malattia sia associata ad un mancato utilizzo di questo substrato energetico. Nel complesso il nostro lavoro ha consentito di chiarire un caso di atassia recessiva noto da dieci anni, associando mutazioni nel gene ECHS1 ad una nuova presentazione neurologica e di eseguire validazioni biochimiche e immunocitochimiche utili per supportare la patogenicità delle varianti trovate e per indirizzare gli studi sulla patogenesi del fenomeno.

Ronchi D, Monfrini E, Bonato S, Mancinelli V, Cinnante C, Salani S, Bordoni A, Ciscato P, Fortunato F, Villa M, Di Fonzo A, Corti S, Bresolin N, Comi GP.

*Dystonia-ataxia syndrome with permanent torsional nystagmus caused by ECHS1 deficiency.*

**Ann Clin Transl Neurol.** 2020 May;7(5):839-845. doi: 10.1002/acn3.51025. Epub 2020 Apr 24. PMID: 32329585; PMCID: PMC7261751. **IF = 4,870**

## **2.3) Identificazione di un nuovo difetto genetico nel gene EARS2 in un paziente con una forma di leucoencefalopatia ad esordio tardivo.**

Il proteoma mitocondriale (l'insieme delle proteine presenti nel mitocondrio) è frutto di una traduzione locale (intramitocodriale) di geni presenti sul DNA mitocondriale e della traduzione citoplasmatica con successivo importato di proteine mitocondriali codificati da geni nucleari. Questa doppia codifica contribuisce alla eterogeneità clinica delle presentazioni mitocondriali. Le moderne tecniche di sequenziamento ci consentono di analizzare e individuare varianti in geni non immediatamente implicabili nel fenotipo analizzato.

In questo lavoro abbiamo eseguito un'analisi di whole exome sequencing per la ricerca del difetto molecolare in un paziente adulto con una malattia neurodegenerativa con anomalie del comportamento, segni piramidali ed extra piramidali e segni di progressivo declino cognitivo.

L'analisi molecolare estesa alle regioni codificanti ci ha consentito di individuare mutazioni nel gene EARS2. Questo gene codifica per l'amminoacil tRNA sintetasi del glutammato, coinvolto nella traduzione intra-mitocondriale. Lo studio del trascritto e della proteina hanno consentito di validare questa nuova mutazione. Mutazioni in EARS2 erano state precedentemente descritte in casi di leucoencefalopatia mitocondriale ad esordio precoce e con un rapido decorso della malattia. In tutti i casi analizzati, compreso il nostro, il reperto neuroradiologico dell'alterazione del segnale della sostanza bianca sembra essere conservato.

Monfrini E, Ronchi D, Franco G, Garbellini M, Straniero L, Scola E, Arienti F, Duga S, Comi GP, Bresolin N, Di Fonzo A.

*Late-onset leucoencephalopathy in a patient with recessive EARS2 mutations.*

**Neurol Genet.** 2020 Jul 13;6(5):e488. doi: 10.1212/NXG.0000000000000488. PMID: 32802952; PMCID: PMC7413628. **IF = 3,509**

#### **2.4) Associazione tra la mutazione nel DNA mitocondriale A13084T (ND5) e la neuropatia ottica ereditaria di Leber (LHON).**

Il gene mitocondriale ND5 codifica per una subunità del complesso I della catena respiratoria. Mutazioni in questo gene sono state descritte in pazienti con forme matrilineari di MELAS e Sindrome di Leigh, due encefalopatie mitocondriali. In questa pubblicazione ne abbiamo descritto le indagini cliniche, strumentali e molecolari condotte nella madre di un paziente con Sindrome di Leigh studiato circa venti anni. Al momento dell'esame del figlio la madre era paucisintomatica: presentava emicrania come unico sintomo. In questo lavoro di follow-up l'esame obiettivo neurologico e oftalmologico nella probanda ha evidenziato una forma di neuropatia ottica ereditaria. Sebbene siano state descritte varie mutazioni nelle subunità codificanti per il complesso I della catena respiratoria, questo è il primo lavoro ad estendere il fenotipo LHON al gruppo di presentazioni cliniche associate con la variante A13084T.

Brusa R, Mauri E, Dell'Arti L, Magri F, Ronchi D, Minorini V, Mainetti C, Gagliardi D, Faravelli I, Meneri M, Bresolin N, Viola F, Corti S, Comi GP.

*Expanding the clinical spectrum of the mitochondrial mutation A13084T in the ND5 gene.*

**Neurol Genet.** 2020 Sep 15;6(5): e511. doi: 10.1212/NXG.0000000000000511. PMID: 33062892; PMCID: PMC7524578. **IF = 3,509**

#### **2.5) Mutazioni nel gene TYMP in forme tardive di miopatia mitocondriale con alterata omeostasi del DNA mitocondriale.**

Il gene TYMP codifica per la timidina fosforilasi, una proteina coinvolta nel metabolismo della timidina e della deossiridina. La perdita di funzione dell'enzima comporta l'accumulo di questi metaboliti con una tossicità multiorgano che colpisce in modo particolare il sistema nervoso centrale (leucoencefalopatia) ed il sistema gastro intestinale in una forma giovanile (esordio entro i venti anni) di malattia mitocondriale nota con l'acronimo di MNGIE. Attraverso un'analisi di panel sequencing, condotta in collaborazione con l'università di Bologna, abbiamo identificato mutazioni bialleliche in TYMP in 3 soggetti adulti. In due casi le manifestazioni muscolari erano l'unico aspetto della malattia. Indagini istologiche, biochimiche e molecolari ci hanno consentito di identificare una soglia di attività residua della timidina fosforilasi, sopra la quale non si sperimentano i sintomi della grave malattia multisistemica ma una forma di miopatie mitocondriale con accumulo di delezioni multiple del DNA mitocondriale. Questo studio invita a considerare TYMP nella diagnosi molecolare di forme di miopatia mitocondriale dell'adulto ed approfondisce la storia naturale del fenotipo MNGIE, fornendo nello stesso tempo elementi utili per il disegno di trial clinici di intervento. Questo lavoro supporta l'ipotesi che mutazioni nello stesso gene mitocondriale possano produrre uno spettro di fenotipi che vanno da gravi presentazioni pediatriche o giovanili multisistemiche, generalmente associate con una deplezione del DNA mitocondriale a

presentazioni adulte con coinvolgimenti isolati legate ad una alterata integrità dl DNA mitocondriale.

Ronchi D, Caporali L, Manenti GF, Meneri M, Mohamed S, Bordoni A, Tagliavini F, Contin M, Piga D, Sciacco M, Saetti C, Carelli V, Comi GP.

*TYMP Variants Result in Late-Onset Mitochondrial Myopathy With Altered Muscle Mitochondrial DNA Homeostasis.*

**Front Genet.** 2020 Aug 5;11:860. doi: 10.3389/fgene.2020.00860. PMID: 32849836; PMCID: PMC7419576. **IF = 3,789**

## **2.6) Caratterizzazione di due nuove mutazioni nel gene SCN4A identificate in un paziente affetto da miotonia.**

La miotonia da canale del sodio (sodium channel myotonia) è una forma di canalopatia muscolare causata da mutazioni a carico del canale muscolare Nav1.4. In questo articolo abbiamo descritto sette famiglie affette da sodium channel myotonia i cui membri sono stati valutati sia dal punto di vista clinico che genetico e presentavano un ampio spettro di sintomi, dall'essere asintomatici ad una chiara miotonia. I pazienti avevano in comune le due nuove mutazioni p.Ile215Thr e p.Gly241Val: la prima cade in un loop extracellulare e la seconda in un loop intracellulare del primo dominio del canale muscolare Nav1.4. Abbiamo inoltre stabilito che p.Ile215Thr può essere correlata ad un effetto fondatore nei pazienti provenienti dall'Italia del sud.

Gli studi elettrofisiologici sulla funzionalità del canale hanno mostrato che l'attivazione voltaggio dipendente era significativamente spostata verso potenziali iperpolarizzati per entrambi i canali mutati (Ile215Thr:  $-28.6 \pm 1.5$  mV e Gly241Val:  $-30.2 \pm 1.3$  mV vs. WT:  $-18.5 \pm 1.3$  mV). Anche l'inattivazione lenta dei canali è risultata significativamente alterata, mentre l'inattivazione veloce si comportava in maniera diversa nei canali mutati.

In questo lavoro abbiamo caratterizzato due nuove mutazioni del gene SCN4A ampliando la conoscenza della genetica delle forme lievi di miotonia e abbiamo presentato il primo paziente omozigote affetto da sodium channel myotonia.

Pagliarani S, Lucchiari S, Scarlato M, Redaelli E, Modoni A, Magri F, Fossati B, Previtali SC, Sansone VA, Lecchi M, Lo Monaco M, Meola G, Comi GP.

*Sodium Channel Myotonia Due to Novel Mutations in Domain I of Nav1.4.*

**Front Neurol.** 2020 Apr 29;11:255. doi: 10.3389/fneur.2020.00255. PMID: 32411069; PMCID: PMC7201054. **IF = 3,552**

## **2.7) Approcci molecolari per il trattamento della malattia di Pompe.**

La malattia da accumulo di glicogeno di tipo II (GSDII, malattia di Pompe) è una malattia metabolica rara causata da una carenza di alfa-glucosidasi acida (GAA), un enzima localizzato nei lisosomi e l'unico responsabile della degradazione del glicogeno in questo compartimento. Le manifestazioni di GSDII sono eterogenee ma sono classificate ad esordio precoce o tardivo. Il decorso naturale della malattia di Pompe ad esordio precoce (EOPD) è grave e rapidamente fatale se non trattato. Attualmente è disponibile una strategia terapeutica chiamata terapia enzimatica sostitutiva ma i progressi negli approcci di medicina molecolare promettono strategie terapeutiche ancora più efficaci. Questi approcci, che qui esaminiamo, comprendono la modifica dello "splicing" tramite oligonucleotidi antisense, "chaperone therapy", "stop codon readthrough therapy" e l'uso di vettori virali per introdurre geni funzionanti. Considerando l'elevata velocità con cui le nuove scoperte vengono traslate dal laboratorio al paziente, è ragionevole aspettarsi miglioramenti sostanziali nel trattamento di questa malattia nell'immediato futuro.

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

### **3) Amiotrofia Spinale e altre malattie del motoneurone**

#### **3.1) Risultati dello studio di estensione OLEOS in pazienti SMA-2/SMA-3 trattati Olexozima**

Un precedente studio clinico di fase due aveva identificato la molecola olexozima come in grado di preservare la funzione motoria in pazienti con mioatrofia spinale di tipo 2 e 3. La molecola presentava un buon profilo di sicurezza pur non raggiungendo gli obiettivi previsti come endpoint primario dello studio. In questo lavoro abbiamo descritto i risultati dello studio OLEOS, uno studio di estensione *open label* che ha valutato la sicurezza e l'efficacia dell'olexozima dopo somministrazione per tempi più lunghi. Nessun rischio per la sicurezza è stato osservato. A confronto con i dati di storia naturale, i pazienti trattati hanno dimostrato un piccolo ma non significativo cambiamento nella funzione motoria nell'arco di 52 settimane. La funzione motoria è rimasta stabile in un anno di trattamento anche se si è ridotta nella seconda fase dello studio. Il più grande declino della funzione motoria è stato osservato in pazienti con età inferiore ai 15 anni. Inoltre, i pazienti con SMA di tipo 2 hanno mostrato un peggioramento più rapido rispetto a quelli di tipo 3. La precedente somministrazione del farmaco nello studio di fase 2 non è risultato protettivo per la funzione motoria valutata nello studio OLEOS. Nel complesso nessuna stabilizzazione nelle scale funzionali è stata osservata in un periodo di 130 settimane. In conclusione, lo studio OLEOS non supporta significativi effetti benefici nei pazienti SMA trattati con farmaco Olexozima.

Muntoni F, Bertini E, Comi G, Kirschner J, Lusakowska A, Mercuri E, Scoto M, van der Pol WL, Vuillerot C, Burdeska A, El-Khairi M, Fontoura P, Ives J, Gorni K, Reid C, Fuerst-Recktenwald S;

*Long-term follow-up of patients with type 2 and non-ambulant type 3 spinal muscular atrophy (SMA) treated with olesoxime in the OLEOS trial.*

**OLEOS Study Group. Neuromuscul Disord.** 2020 Dec;30(12):959-969. doi: 10.1016/j.nmd.2020.10.008. Epub 2020 Nov 5. PMID: 33246887. **IF = 2,638**

#### **3.2) Valutazione della sicurezza e dell'efficacia del trattamento con Nusinersen in pazienti adulti con amiotrofia spinale di tipo 2 e di tipo 3.**

Il trattamento con Nusinersen, un oligonucleotide antisense che modula lo splicing dell'esone 7 di SMN2 consentendo la parziale produzione di proteina SMN *full-length*, ha trasformato il trattamento dell'Amiotrofia spinale 5q. In questo studio multicentrico che ci ha visti coinvolti abbiamo valutato la sicurezza e l'efficacia di questo trattamento in un'ampia coorte di pazienti adulti affetti da SMA. I criteri di inclusione per l'arruolamento nello studio erano: una diagnosi molecolare e clinica compatibile con SMA2 e SMA3, un trattamento con nusinersen iniziato nella vita adulta (>18 anni), la disponibilità di dati clinici all'inizio e a sei mesi dall'inizio del trattamento. Questi criteri sono stati superati da 116 pazienti (SMA3 in larga maggioranza, con una età media alla prima somministrazione di 34 anni. La scala di Hammersmith nei pazienti con SMA3 ha mostrato un miglioramento significativo nel periodo considerato dello studio e questi cambiamenti sono risultati significativi in modo per tutti i pazienti SMA3, senza distinzioni sulla base della loro capacità di camminare. Al contrario i pazienti SMA2 non hanno mostrato cambiamenti significativi nei time points dello studio, anche se un trend verso il miglioramento è stato identificabile nei pazienti che avevano conservato una funzione residua all'inizio del trattamento. La percentuale di pazienti che hanno mostrato un miglioramento clinico significativo è aumentata dal 53 al 69% passando da 6 mesi a 14 mesi di trattamento.

In conclusione, questo importante studio ci ha consentito di dimostrare che il trattamento con nusinersen è sicuro ed efficace nei pazienti adulti con SMA di tipo 2 e di tipo 3. Questi ultimi pazienti mostrano un effetto cumulativo nel tempo. Resta da capire gli effetti del trattamento farmacologico in pazienti con una malattia in fase estremamente avanzata.

Maggi L, Bello L, Bonanno S, Govoni A, Caponnetto C, Passamano L, Grandis M, Trojsi F, Cerri F, Ferraro M, Bozzoni V, Caumo L, Piras R, Tanel R, Saccani E, Meneri M, Vacchiano V, Ricci G, Soraru' G, D'Errico E, Tramacere I, Bortolani S, Pavesi G, Zanin R, Silvestrini M, Politano L, Schenone A, Previtali SC, Berardinelli A, Turri M, Verriello L, Coccia M, Mantegazza R, Liguori R, Filosto M, Marrosu G, Siciliano G, Simone IL, Mongini T, Comi G, Pegoraro E.

*Nusinersen safety and effects on motor function in adult spinal muscular atrophy type 2 and 3.*

**J Neurol Neurosurg Psychiatry.** 2020 Nov;91(11):1166-1174. doi: 10.1136/jnnp-2020-323822. Epub 2020 Sep 11. PMID: 32917822. **IF = 8,234**

### **3.3) Studio di risonanza magnetica muscolare in due pazienti SMA trattati con Nusinersen: follow-up a due anni.**

Gli effetti del nusinersen nella popolazione di pazienti SMA adulti si avvale dell'uso di scale per la valutazione della funzione neuromotoria mentre dati clinici e di imaging che descrivano i cambiamenti del muscolo nel tempo non sono disponibili. In questo studio due pazienti adulti affetti da amiotrofia spinale sono stati clinicamente e radiologicamente caratterizzati all'inizio e dopo 10 e 24 mesi dall'inizio del trattamento con nusinersen. Dopo due anni di trattamenti le scale funzionali impiegate mostrano una stabilizzazione dell'andamento della malattia. Le sequenze DTI hanno parimenti mostrato un aumento nel numero, lunghezza e organizzazione delle fibre muscolari. Sebbene riferibili solamente a due pazienti, i nostri dati suggeriscono che la risonanza magnetica muscolare può avere un ruolo interessante nel monitoraggio periodico dei pazienti in trattamento con nusinersen (ed altri trattamenti terapeutici).

Barp A, Carraro E, Albamonte E, Salmin F, Lunetta C, Comi GP, Messina C, Albano D, Chianca V, Sconfienza LM, Mercuri EM, Sansone VA.

*Muscle MRI in two SMA patients on nusinersen treatment: A two years follow-up.*

**J Neurol Sci.** 2020 Oct 15;417:117067. doi: 10.1016/j.jns.2020.117067. Epub 2020 Jul 29. PMID: 32745721 Free PMC article. **IF = 3,115**

### **3.4) Analisi sistematica dei pattern di risonanza magnetica muscolare nei pazienti con SMA di tipo 2 e di tipo 3.**

Pochi studi hanno fino a questo momento studiato il coinvolgimento muscolare nei pazienti SMA usando la risonanza magnetica muscolare. Questo approccio non è stato applicato in modo sistematico ad una coorte di pazienti pediatrici ed adulti con SMA di tipo 2 e di tipo 3. In questo studio abbiamo colmato questa lacuna tentando di definire il gli schemi di coinvolgimento muscolare (valutando sia sostituzione adiposa che atrofia muscolare) in una coorte di pazienti SMA di tipo 2 e tipo 3 pediatrici ed adulti (range di età: 2-45 anni), includendo sia pazienti deambulanti che non deambulanti. I risultati di questa analisi, eseguita mediante sofisticate tecniche di imaging e di analisi dei dati hanno evidenziato una grande variabilità nella SMA di tipo 2 e di tipo 3 con un variabile gradiente prossimo-distale. Alcuni muscoli come l'adduttore lungo e il gracile sono sempre risultati risparmiati in modo selettivo dalla malattia. In tutti i pazienti abbiamo osservato elementi misti di sostituzione fibro-adiposa e atrofia muscolare. La variabilità osservata potrebbe aiutare a comprendere sia la storia naturale che la risposta a nuovi trattamenti.



Brognia C, Cristiano L, Verdolotti T, Pichiecchio A, Cinnante C, Sansone V, Sconfienza LM, Berardinelli A, Garibaldi M, Antonini G, Pane M, Pera MC, Antonaci L, Ficociello L, Albamonte E, Tasca G, Begliuomini C, Tartaglione T, Maggi L, Govoni A, Comi G, Colosimo C, Mercuri E.

*MRI patterns of muscle involvement in type 2 and 3 spinal muscular atrophy patients.*

**J Neurol.** 2020 Apr;267(4):898-912. doi: 10.1007/s00415-019-09646-w. Epub 2019 Nov 27. PMID: 31776722. **IF = 3,783**

### **3.5) Espansioni ripetute patogeneiche nell'huntingtina in pazienti con demenza frontotemporale e sclerosi laterale amiotrofica.**

Abbiamo esaminato il ruolo delle espansioni ripetute nella patogenesi della demenza frontotemporale (FTD) e della sclerosi laterale amiotrofica (SLA) analizzando i dati delle sequenze dell'intero genoma da 2.442 pazienti FTD/SLA, 2.599 pazienti con demenza da corpi di Lewy (LBD) e 3.158 soggetti neurologicamente sani. Espansioni patogeneiche (tra 40 e 64 ripetizioni CAG) nel gene dell'huntingtina (*HTT*) sono state trovate in tre (0,12%) pazienti con diagnosi di FTD/SLA ma non erano presenti nei pazienti con LBD o nei soggetti sani. Abbiamo replicato i nostri risultati in una raccolta indipendente di 3.674 pazienti con FTD/SLA. Le valutazioni post-mortem di due pazienti hanno rivelato la classica patologia TDP-43 di FTD/SLA, come anche aggregati positivi all'huntingtina e all'ubiquitina nella corteccia frontale. L'atrofia neostriatale che definisce patologicamente la malattia di Huntington era assente in entrambi i casi. I nostri risultati rivelano una relazione eziologica tra espansioni ripetute *HTT* e sindromi FTD/SLA e indicano che lo screening genetico per le espansioni ripetute *HTT* dovrebbe essere tenuto in considerazione per i pazienti FTD/SLA.

Dewan R, Chia R, Ding J, Hickman RA, Stein TD, Abramzon Y, Ahmed S, Sabir MS, Portley MK, Tucci A, Ibáñez K, Shankaracharya FNU, Keagle P, Rossi G, Caroppo P, Tagliavini F, Waldo ML, Johansson PM, Nilsson CF; American Genome Center (TAGC); FALS Sequencing Consortium; Genomics England Research Consortium; International ALS/FTD Genomics Consortium (iAFGC); International FTD Genetics Consortium (IFGC); International LBD Genomics Consortium (iLBDGC); NYGC ALS Consortium; PROSPECT Consortium, Rowe JB, Benussi L, Binetti G, Ghidoni R, Jabbari E, Viollet C, Glass JD, Singleton AB, Silani V, Ross OA, Ryten M, Torkamani A, Tanaka T, Ferrucci L, Resnick SM, Pickering-Brown S, Brady CB, Kowal N, Hardy JA, Van Deerlin V, Vonsattel JP, Harms MB, Morris HR, Ferrari R, Landers JE, Chiò A, Gibbs JR, Dalgard CL, Scholz SW, Traynor BJ.

*Pathogenic Huntingtin Repeat Expansions in Patients with Frontotemporal Dementia and Amyotrophic Lateral Sclerosis.*

**Neuron.** 2020 Nov 26;S0896-6273(20)30883-7. doi: 10.1016/j.neuron.2020.11.005. Epub ahead of print. PMID: 33242422. **IF = 14,403**

## **4) Malattie Cerebrovascolari**

### **4.1) Una mutazione nel gene ENG in un nuovo caso familiare di malattia di Rendu Osler Weber con alterazione dello sviluppo corticale.**

Mutazioni nel gene *ENG* sono associate ad un disordine genetico cerebrovascolare noto come telengectasia emorragica ereditaria (o malattia di Rendu Osler Weber). La trasmissione è autosomica dominante anche se un meccanismo di perdita di funzione mediante seconda mutazione allelica di origine somatica sembra essere il più accreditato meccanismo patogenetico. In questo studio abbiamo identificato, mediante un approccio di sequenziamento diretto, una sostituzione nucleotidica che porta alla perdita del codone di inizio della traduzione nel gene *ENG* in una famiglia multigenerazionale con sintomi clinici ed elementi neuroradiologici riconducibili alla malattia di Rendu Osler Weber. In due dei tre

soggetti indagati sono stati osservati segni di alterazione dello sviluppo corticale (displasia corticale di tipo 2), una malformazione precedentemente non descritta in questo tipo di patologia ma che sostiene le più recenti ipotesi patogenetiche che vedono il coinvolgimento di ENG (tra i geni associati a Rendu Osler Weber) nella fisiologica maturazione della corteccia umana.

Villa D, Cinnante C, Valcamonica G, Manenti G, Lanfranconi S, Colombi A, Ghione I, Saetti MC, D'Amico M, Bonato S, Bresolin N, Comi GP, Ronchi D.

*Hereditary hemorrhagic telangiectasia associated with cortical development malformation due to a start loss mutation in ENG. BMC*

**Neurol.** 2020 Aug 26;20(1):316. doi: 10.1186/s12883-020-01890-2. PMID: 32847536; PMCID: PMC7450577. **IF = 2,356**

#### **4.2) Analisi molecolari in una coorte di pazienti con angiomatosi cavernosa cerebrale.**

Anche nel corso del 2020 abbiamo continuato l'indagine dei pazienti CCM mediante il ricco repertorio di tecniche molecolari messo a punto nei precedenti anni). L'interesse del centro per questa malattia è dall'arruolamento per lo studio clinico TREAT-CCM finanziato da AIFA per la valutazione del potenziale terapeutico del beta-bloccante Propanolo sulla progressione della malattia valutata mediante outcome neurologici e neuroradiologici. In questo studio multicentrico il nostro Centro è coordinatore nazionale per gli aspetti clinici e neuroradiologici e la dott.sa Lanfranconi riveste attualmente il ruolo di PI dello studio.

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

Le mutazioni germinali associate alle forme familiari di angiomi cavernosi portano spesso alla perdita della espressione dell'allele che le contiene. Trattandosi di mutazioni puntiformi che interessano siti di splicing o mutazioni troncanti che portano a frameshift nella traduzione proteica o alla formazione di codoni di STOP prematuri, il sequenziamento delle regioni codificanti e delle sequenze introniche limitrofe è una tecnica di elezione per lo screening dei geni coinvolti in questa patologia. In pazienti privi di mutazioni puntiformi, l'estensione dello screening molecolare mediante tecnica MLPA consente di verificare la presenza di delezioni e duplicazioni eterozigoti.

L'analisi molecolare nei geni malattia ci ha consentito di identificare una mutazione causativa in 48 soggetti di 30 famiglie indipendenti. Il 67% dei casi presenta mutazioni in KRIT1 mentre il 30% presenta mutazioni in CCM2. Solo un caso ha mostrato una delezione eterozigote nel gene PDCD10, confermando la rarità di questa associazione. Lo spettro mutazionale è molto eterogeneo e si osservano: indels che portano a mutazioni frameshift, mutazioni in siti di splicing, mutazioni non senso, delezioni esoniche o multiesoniche e mutazioni missense.

Questi risultati, insieme alle analisi cliniche e neuradiologiche sono stati raccolti in un manoscritto attualmente in fase di revisione. Inoltre, il sottogruppo di pazienti con alterazioni di splicing è stato oggetto di uno studio scientifico collaborativo indipendente sulla caratterizzazione delle anomalie trascrizionali nei pazienti con questo particolare tipo di mutazione.

Characterization of five KRIT1 and PDCD10 intronic variants in cerebral cavernous malformation, *submitted Clinical Genetics*

Clinical, neuroradiological and genetic findings in a cohort of patients with multiple Cerebral Cavernous Malformations, *submitted Metabolic Brain Disease*

## 5) Altre malattie neurologiche

### 5.1) Infarto iperacuto del midollo spinale esteso e risonanza magnetica della colonna vertebrale negativa: caso clinico e revisione della letteratura.

L'infarto del midollo spinale (IMS) rappresenta solo l'1-2% degli ictus ischemici ed il 5-8% delle mielopatie acute. La diagnostica per immagini tramite risonanza magnetica ricopre un importante ruolo nell'escludere le eziologie non ischemiche, ma l'accuratezza diagnostica di tale procedura può essere limitata nel confermare la diagnosi di IMS, anche quando siano presenti lesioni ischemiche estese a livello midollare. Infatti, le alterazioni della sequenza T2 in risonanza magnetica possono svilupparsi nel corso di ore o giorni, il che rende ragione della bassa sensibilità di tale metodica in condizioni iper-acute (ovvero, entro sei ore dallo sviluppo della sintomatologia). Per queste ragioni, l'IMS rimane una diagnosi clinica. Nonostante le procedure diagnostiche, fino al 20-40% dei casi di IMS sono classificati come idiopatici. In questo lavoro, descriviamo un caso di mielopatia trasversa idiopatica estesa dovuta ad IMS, con risonanza magnetica negativa a 9 ore dall'esordio dei sintomi. Una donna di 51 anni si presentava al nostro pronto soccorso con dolore addominale acuto severo, nausea, vomito ed un esordio improvviso di ipostenia bilaterale agli arti inferiori con ipoestesia diffusa e parestesie al tronco e alle gambe. All'esame neurologico, la paziente mostrava una paraparesi severa ed un livello sensitivo a D6. La diagnostica per immagine a mezzo di risonanza magnetica eseguita a 9 ore dall'esordio dei sintomi non rivelava alcuna alterazione del midollo spinale. Tuttavia, a causa del persistere della sintomatologia, che suggeriva una mielopatia acuta, una risonanza magnetica veniva ripetuta a 72 ore, rivelando un segnale iperintenso "pencil-like" che coinvolgeva principalmente la sostanza grigia da T1 a T6 sulle sequenze T2, e moderatamente ipointenso nelle sequenze T1, con restrizione in diffusione. Si somministrava acido acetilsalicilico (100 mg/die), eparina a basso peso molecolare profilattica e si sottoponeva la paziente a riabilitazione neuromotoria. Due mesi dopo, una visita neurologica di controllo rivelava una paraparesi spastica severa, senza evidenza di livelli sensitivi, e scarso controllo sfinterico con sovradistensione vescicale. Indipendentemente dalla sua relativamente bassa frequenza nella popolazione generale, l'IMS dovrebbe essere sospettato in tutti i pazienti che si presentino con sintomi compatibili con una mielopatia acuta e progressiva, anche in assenza di fattori di rischio vascolari. Dunque, una presentazione clinica compatibile con una sindrome vascolare che coinvolga il midollo spinale non deve essere esclusa in caso di negatività alla risonanza magnetica, e deve essere trattata in modo tempestivo.

Costamagna G, Meneri M, Abati E, Brusa R, Velardo D, Gagliardi D, Mauri E, Cinnante C, Bresolin N, Comi G, Corti S, Faravelli I.

*Hyperacute extensive spinal cord infarction and negative spine magnetic resonance imaging: a case report and review of the literature.*

**Medicine** (Baltimore). 2020 Oct 23;99(43):e22900. doi: 10.1097/MD.00000000000022900. PMID: 33120840; PMCID: PMC7581089. **IF = 2,331**

### **5.2) Gestione dei pazienti con malattie neuromuscolari al tempo della pandemia da SARS-CoV-2.**

La pandemia da COVID-19 ha determinato molteplici difficoltà per i pazienti con malattie neuromuscolari. Il rischio di un decorso grave da SARS-CoV-2 è incrementato in tutte le forme di malattia, ad esclusione di quelle più lievi. Condizioni ad alto rischio includono una ridotta clearance delle vie aeree dovuta a debolezza orofaringea e il rischio di peggioramento con febbre, digiuno o l'isolamento dovuto all'infezione. L'isolamento domiciliare potrebbe avere un impatto sui trattamenti somministrati in ambito ospedaliero, tra cui nusinersen, alfa glicosidasi, immunoglobuline intravenose e infusioni di rituximab. Inoltre, terapie specifiche per l'infezione da SARS-CoV-2 in fase di studio alterano la funzione neuromuscolare in modo significativo; la cloroquina e l'azitromicina non sono raccomandate in pazienti che non abbiano un adeguato supporto ventilatorio e la posizione prona prolungata può ridurre le opzioni terapeutiche a disposizione. Altre terapie potrebbero avere un impatto sulle malattie neuromuscolari (metaboliche, mitocondriali, miotoniche) e approcci sperimentali per COVID-19 dovrebbero essere offerti in via compassionevole solo dopo aver consultato lo specialista di malattie neuromuscolari. In parallelo, la riorganizzazione dei setting ospedalieri e dei servizi ambulatoriali potrebbe cambiare la gestione di pazienti con malattie neuromuscolari non infetti e i loro caregivers, favorendo approcci a distanza. Tuttavia, la letteratura disponibile sulla validità di procedure di telemedicina in questo sottogruppo di pazienti è scarsa. Quindi, nel momento in cui la prima ondata pandemica sta progredendo, i clinici e i ricercatori dovrebbero affrontare queste cruciali tematiche rimaste senza risposta, di modo tale da garantire un supporto adeguato per i pazienti con malattie neuromuscolari. Questo articolo raccoglie le prove disponibili fino ad ora ed offre una guida sia per i neurologi generali sia per gli specialisti neuromuscolari che abbiano a che fare con pazienti con malattie neuromuscolari al tempo della pandemia da COVID-19.

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

*Management of patients with neuromuscular disorders at the time of the SARS-CoV-2 pandemic.*

**J Neurol.** 2020 Aug 17;1–12. doi: 10.1007/s00415-020-10149-2. Epub ahead of print. PMID: 32804279; PMCID: PMC7429942. **IF = 3,783**

### **5.3) Mieloradiculite da virus Herpes Simplex tipo 2 con una presentazione unicamente motoria in un paziente che ha ricevuto un trapianto di fegato.**

In questo report, abbiamo descritto il primo caso confermato da PCR di mieloradiculite da HSV2 con presentazione unicamente motoria, occorso in un paziente di 68 anni che è stato sottoposto a trapianto di fegato. Il paziente ha riportato ipostenia ascendente senza coinvolgimento sensitivo o sfinterico, che mimava pertanto la sindrome di Guillain-Barrè. Il DNA di HSV2 è stato rilevato nel liquido cerebrospinale tramite PCR ed il paziente è stato trattato con Acyclovir per via endovenosa.

Abati E, Gagliardi D, Velardo D, Meneri M, Conte G, Cinnante C, Bresolin N, Comi G, Corti S.

*Herpes Simplex virus type 2 myeloradiculitis with a pure motor presentation in a liver transplant recipient.*

**Transpl Infect Dis.** 2020 Feb;22(1): e13236. doi: 10.1111/tid.13236. Epub 2020 Jan 1. PMID: 31868290. **IF = 2,071**

#### **5.4) Miopatia necrotizzante pediatrica con anticorpi anti-HMGCR: sfida diagnostica e revisione della letteratura.**

L'articolo descrive il caso clinico di un bambino di 7 anni, con insorgenza subdola di ipostenia agli arti inferiori e rialzo delle CPK fino a 10.000 U/L. E' stata condotta un'analisi MLPA del gene DMD che non ha mostrato delezioni né duplicazioni. La biopsia muscolare ha evidenziato un quadro distrofico con numerose fibre in necrosi. Ulteriori indagini genetiche hanno escluso distrofie dei cingoli. La risonanza magnetica degli arti inferiori non ha evidenziato edema. In considerazione del rapido peggioramento clinico è stata rivalutata la biopsia, con riscontro di positività sarcolemmale degli anticorpi anti-MHC-I e deposizione di complemento sui capillari. Lo screening autoimmune ha rivelato la positività degli anticorpi anti-HMGCR e la seconda risonanza magnetica ha mostrato segni infiammatori. Il bambino è stato trattato con steroidi e immunoglobuline endovena con ottimo recupero funzionale. Questo caso conferma che la ricerca degli anticorpi anti-HMGCR dovrebbe far parte della valutazione iniziale nei pazienti pediatrici con sospetta distrofia muscolare e test genetici non rivelatori, anche in presenza di una risonanza magnetica negativa.

Velardo D, Faravelli I, Cinnante C, Moggio M, Comi GP.

*Pediatric anti-HMGCR necrotizing myopathy: diagnostic challenges and literature review.*

**Neurol Sci.** 2020 Oct;41(10):3009-3013. doi: 10.1007/s10072-020-04491-6. Epub 2020 Jun 1. PMID: 32488450 No abstract available. **IF = 1,447**

#### **5.5) Studio di un caso clinico di encefalopatia associata a Covid19**

Viene descritto il caso di una paziente di 63 anni, che ha necessitato del ricovero in terapia intensiva per polmonite severa da SARS-CoV2. Trasferita dopo circa 30 giorni in un reparto di medicina, la paziente ha presentato deviazione di capo e globi oculari verso sinistra e crisi toniche parziali continue all'emisoma di sinistra. La paziente è stata nuovamente trasferita in terapia intensiva e indagata con RM dell'encefalo, che ha mostrato edema corticale e restrizione della diffusività nelle regioni posteriori dell'emisfero destro, sede del focus epilettico, oltre a multiple lesioni con aspetto tumefatto, parzialmente confluenti, nella sostanza bianca emisferica bilaterale, prevalenti nelle regioni posteriori e compatibili con edema cerebrale. Le sequenze con mezzo di contrasto hanno mostrato un enhancement puntiforme perivascolare nella sostanza bianca sovra- e sottotentoriale, senza reperti caratteristici di vasculite. Si è quindi assistito a un graduale miglioramento clinico e strumentale, per cui a 6 mesi residuava esclusivamente un parziale difetto visivo in occhio sinistro. E' stata pertanto formulata una diagnosi di encefalopatia PRES-like con reperti di risonanza peculiari, dal momento che le caratteristiche dell'enhancement, probabilmente indicative di un danno dei piccoli vasi immuno-mediato, non sono mai state riportate nella PRES.

Conte G, Avignone S, Carbonara M, Meneri M, Ortolano F, Cinnante C, Triulzi F. **AJNR**

*COVID-19-Associated PRES-like Encephalopathy with Perivascular Gadolinium Enhancement.*

**Am J Neuroradiol.** 2020 Dec;41(12):2206-2208. doi: 10.3174/ajnr. A6762. Epub 2020 Aug 13. PMID: 32816769. **IF = 3,653**

### **6) Sperimentazioni cliniche nelle patologie neuromuscolari**

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

Le sperimentazioni svolte nel corso del 2020 includono:

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

- PTC124-GD-025o-DMD Long term observational study of Translarna Safety and effectiveness in Usual Care
- DSC/14/2357/48 “Randomised, Double Blind, Placebo Controlled, Multicentre Study to Evaluate the Efficacy and Safety of Givinstat in Ambulant Patients With Duchenne Muscular Dystrophy”
- 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”
- DSC/15/2357/53 “A randomised, double blind, placebo-controlled study to evaluate the micro-macroscopic effects on muscles, the safety and tolerability, and the efficacy of givinstat in patients with Becker Muscular Dystrophy”

Sperimentazioni in pazienti affetti da Atrofia Muscolare Spinale

- 5BP39056 “A Two Part Seamless, Open-label, Multicenter Study to Investigate the Safety, Tolerability, Pharmacokinetics, Pharmacodynamics and Efficacy of RO7034067 in Infants With Type 1 Spinal Muscular Atrophy”
- BP39055 “A Two-Part Seamless, Multi-Center Randomized, Placebo-Controlled, Doubleblind Study to Investigate the Safety, Tolerability, Pharmacokinetics, Pharmacodynamics and Efficacy of RO7034067 in Type 2 and 3 Spinal Muscular Atrophy Patients”
- BP39054 “An open label study to investigate the safety, tolerability, and pharmacokinetics/ Pharmacodynamics of RO7034067 in adult and pediatric patients with spinal muscular atrophy”
- European, Phase 3, Open-Label, Single-Arm, Single-Dose Gene Replacement Therapy Clinical Trial for Patients With Spinal Muscular Atrophy Type 1 With One or Two SMN2 Copies Delivering AVXS-101 by Intravenous Infusion 17

Sperimentazioni in pazienti affetti da glicogenosi

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

**6.1) EPYDYS: Valutazione di efficacia di Givinstat, un inibitore delle istone deacetilasi nella Distrofia Muscolare di Duchenne**

Lo studio sperimentale internazionale a cui partecipiamo valuta l'attività della molecola Givinstat in bambini affetti da Distrofia Muscolare di Duchenne. Questo farmaco è in fase di studio dal 2017 presso il nostro centro, dove è stato condotto un primo studio preliminare di fase II a cui hanno partecipato 6 nostri pazienti, attualmente concluso. Epydys è uno studio di fase III iniziato nel 2019. Questo studio ha raggiunto nell'agosto 2020 l'obiettivo di randomizzare 110 soggetti DMD nel gruppo in target, portando ad un totale di 171 soggetti randomizzati. Si tratta di una sperimentazione clinica di enorme impegno, che ha dovuto affrontare ostacoli connessi all'epidemia da COVID-19. Nel corso del prossimo anno proseguirà lo studio e contiamo di avere i risultati per la fine del prossimo anno. Lo studio ha già superato un criterio di valutazione ad una analisi ad interim. Oltre ad essere uno studio su un farmaco innovativo, è anche il primo studio clinico farmacologico, nella Distrofia

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

### **6.2) Registro Stride.**

Prosegue presso il nostro Centro 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. Questo farmaco è un farmaco già approvato da AIFA. La molecola è in grado di promuovere il *reading through* di mutazioni responsabili di stop codon patologici ed è stato dimostrato che la sua assunzione può determinare un rallentamento nella progressione della patologia. L'arruolamento nel registro si è concluso nel Giugno 2020. Al momento attuale sono arruolati presso il nostro Centro 8 pazienti. La raccolta di dati a lungo termine sia in pazienti deambulanti sia in pazienti che hanno già perso la capacità di deambulare in maniera indipendente fornirà ulteriori dati a lungo termine, in particolare in merito agli effetti del farmaco sul rallentamento del deterioramento della funzionalità respiratoria e della funzionalità motoria agli arti superiori.

### **6.3) Embark Study - Terapia genica con vettore virale adeno-associato (AAV) in bambini affetti da Distrofia Muscolare di Duchenne**

Il nostro centro è stato inoltre selezionato per partecipare a uno studio di terapia genica condotto da Sarepta Therapeutics con vettore virale adeno-associato (AAV) codificanti per microdistrofina in pazienti pediatrici affetti da DMD. Prevediamo di includere nello studio pazienti DMD di età compresa tra i 4-7 anni deambulanti e una seconda coorte di pazienti non deambulanti in età pediatrica. Lo studio di fase 3 intende valutare l'efficacia del trasferimento genico della microdistrofina in termini di produzione della proteina e miglioramento funzionale. Nel corso del 2020 abbiamo completato le procedure di accreditamento per la terapia genica fase 1-3 e prevediamo di poter arruolare i primi pazienti nel corso del 2021.

### **6.4) Studio sperimentale relativo alla valutazione di efficacia di Givinostat, un inibitore delle istone deacetilasi nella Distrofia Muscolare di Becker**

La BMD, la forma allelica più comune di distrofinopatia, si verifica con un'incidenza di circa 1 su 12.000. La BMD è caratterizzata da un'età più avanzata di insorgenza, una progressione clinica più lenta, un ampio spettro di variabilità fenotipica e una sopravvivenza molto più lunga rispetto ai pazienti con DMD. La sua gravità varia notevolmente tra i pazienti e le caratteristiche cliniche sono molto variabili, da una condizione asintomatica o minimamente sintomatica anche in età avanzata, alla morte precoce per insufficienza cardiaca (Bushby et al., 1991 e 2010, Comi 1994). Nel corso del 2020 è stato completato l'arruolamento di 48 pazienti (di età compresa tra 18 e 65 anni).

La diagnosi genetica comprendeva sia delezioni / duplicazioni dell'esone in-frame sia mutazioni missenso nel gene della distrofina. Tutti i pazienti erano ancora deambulanti e con un'attività cardiaca stabile. I pazienti sono stati regolarmente monitorati e valutati. Tutti i pazienti con BMD sono stati sottoposti a biopsia del muscolo scheletrico del bicipite brachiale. Per confrontare i dati morfometrici sono state utilizzate come controlli quindici biopsie muscolari del bicipite brachiale precedentemente eseguite per ragioni cliniche in soggetti maschi di pari età ritenuti privi di disturbi muscolari.

Oltre alla biopsia muscolare, le altre misure che concorreranno all'analisi dei risultati nel corso del 2021 saranno: Il test di camminata di 6 minuti (6MWT) (McDonald CM et al., 2010), il test di corsa / camminata a tempo di 10 m, il tempo per alzarsi da una posizione supina (tempo di Gower) e le scale di misurazione della funzione motoria (MFM- 32, Berard C et al., 2005).

### **6.5) Studi Firefish, Sunfish, Jewelfish nella Atrofia Muscolare Spinale.**

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

Negli ultimi anni si è ampliata la gamma di molecole in corso di sperimentazione per il trattamento della Atrofia Muscolare Spinale.

Sono in corso presso il nostro centro tre differenti sperimentazioni cliniche internazionali multicentriche con la molecola Risdiplam (Evrysdi). Risdiplam è una molecola somministrata per via orale che agisce come modificatore di splicing del gene SMN2 con l'obiettivo di determinare la produzione di una proteina full-length e funzionante. Questa molecola è stata approvata in Agosto 2020 negli USA per il trattamento di pazienti affetti da SMA di età superiore ai 2 anni.

I pazienti attualmente arruolati presso il nostro centro in queste sperimentazioni sono 18.

Gli studi valutano l'efficacia e la sicurezza del farmaco tramite esami ematici, test con scale funzionali, scale di qualità di vita e raccolta di campioni per il dosaggio di biomarcatori e dei livelli di proteina SMN.

Lo studio Firefish (BP39054) è uno studio in aperto in pazienti affetti da SMA di tipo I. Lo studio ha dimostrato un miglioramento nello sviluppo motorio dei pazienti trattati a 12 mesi e un buon profilo di sicurezza. Presso il nostro Centro sono stati arruolati due pazienti, attualmente in follow-up.

Lo studio Sunfish (BP39055) ha arruolato pazienti affetti da SMA di tipo II e III. Ha previsto una prima fase della durata di un anno in doppio cieco, attualmente conclusa, e una seconda fase in aperto attualmente in corso. Lo studio Jewelfish è invece uno studio in aperto a lungo termine che prevede la somministrazione del farmaco in pazienti che hanno precedentemente partecipato alla sperimentazione clinica con farmaco Olesoxime ("OLEOS multicenter, open-label, single arm study to evaluate long-term safety, tolerability and effectiveness of 10 mg/kg olesoxime in patients with SMA") o che hanno assunto la dose di carico di Nusinersen (Spinraza).

L'analisi dei risultati della prima parte dello studio SUNFISH ha evidenziato che risdiplam ha prodotto un miglioramento significativo della funzione motoria dopo 24 mesi di trattamento in soggetti di età compresa tra 2 e 25 anni con SMA di tipo 2 o 3. Inoltre, i dati preliminari a 12 mesi dello studio JEWELFISH hanno messo in luce aumenti rapidi e sostenuti dei livelli di proteina SMN.

La raccolta di ulteriori dati nell'arco del prossimo anno consentirà di verificare queste prime osservazioni.

Recentemente Risdiplam è inoltre stato approvato per la prescrizione come uso compassionevole nei pazienti con SMA I e II che non possono intraprendere altre terapie, presso il nostro centro viene attualmente somministrato a 2 pazienti con SMA I e al paziente affetto da SMA II.

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

Dal 2018 e al 2020 è stato inoltre condotta la sperimentazione clinica con terapia genica per pazienti affetti da Atrofia Muscolare Spinale di tipo I (European, Phase 3, Open-Label, Single-Arm, Single-Dose Gene Replacement Therapy Clinical Trial for Patients With Spinal



Muscular Atrophy Type 1 With One or Two SMN2 Copies Delivering AVXS-101 by Intravenous Infusion), di particolare importanza per il carattere di innovazione della metodica utilizzata.

Sono stati trattati 4 pazienti con la forma di SMA di tipo I. E' stato inoltre approvato lo studio di estensione che prevede un follow up neurologico, cardiologico, pneumologico e funzionale di 15 anni degli stessi pazienti.

#### **6.6) Studio COMET (COMparative Enzyme replacement Trial with neoGAA versus rhGAA )**

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

Questo studio si propone di valutare, con una fase in doppio cieco con terapia standard e una in aperto, l'efficacia e la sicurezza di una nuova terapia enzimatica sostitutiva (neoGAA o alglucosidasi alfa) in pazienti con LOPD e mai trattati con Myozyme. Presso il nostro Centro sono stati arruolati due pazienti, attualmente solo uno di essi sta proseguendo lo studio e viene valutato con esami ematochimici mensili e prove funzionali trimestrali.

#### **6.7) Terapia genica in pazienti affetti da Glicogenosi II**

La terapia con enzima ricombinante nelle Glicogenosi di tipo II non è spesso sufficiente a determinare una stabilizzazione della malattia. Per questo motivo sono in corso di studio altre terapie innovative, quali ad esempio la terapia genica.

Il nostro Centro ha partecipato nel corso nel 2020 allo studio SPK-GAA-100, uno studio preliminare attualmente concluso nel quale sono stati dosati in pazienti affetti da glicogenosi II ed in terapia con enzima ricombinante i livelli di anticorpi contro l'enzima GAA e contro AAV in previsione di una futura terapia genica con virus adenoassociato (AAV). Nel nostro centro sono stati arruolati 5 pazienti.

Questo studio è preliminare allo studio SPK\_GAA\_101, che partirà anche presso il nostro Centro nel corso del 2021. Questo è uno studio prospettico, multinazionale, multicentrico, in aperto, non randomizzato, di Fase 1/2 di terapia genica in soggetti affetti da Malattia di Pompe dell'adulto. Questo studio si pone come obiettivo di valutare la sicurezza, la tollerabilità e l'efficacia di una singola infusione endovenosa di SPK-3006 in soggetti adulti affetti da malattia di Pompe a esordio tardivo clinicamente moderata che ricevono ERT.

#### **6.8) Terapia con efgartigimod in pazienti affetti da CIDP**

Nel corso del 2020 il nostro centro è stato inoltre selezionato per la partecipazione a questa 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 di età pari e superiore a 18 anni affetti da polineuropatia demielinizzante infiammatoria cronica (CIDP). L'arruolamento dei pazienti inizierà nel 2021.



## **LABORATORIO DI NEUROIMMUNOLOGIA CLINICA**

Prof. Giacomo P. Comi  
Dott.ssa Domenica Saccomanno

Neurologo  
Biologa

Laboratorio di Neuroimmunologia: Certificazione di qualità INSTAND (europeo) anno 2020 inerente la diagnostica delle sindromi neurologiche paraneoplastiche.

### **Attività diagnostica**

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

### **Attività di ricerca**

#### **Dosaggio degli anticorpi anti-GAD65 nella Stiff-Man-Syndrome**

La Stiff-Man-Syndrome è una rara patologia del sistema nervoso centrale caratterizzata da rigidità muscolare, spasmi dolorosi ed alti titoli di anticorpi anti-GAD65. In particolare, quella associata agli anticorpi anti-GAD è una sindrome neurologica nella maggior parte dei casi non paraneoplastica. Anticorpi diretti contro l'enzima GAD sono riscontrabili in pazienti affetti da Stiff-Man-Syndrome (SMS), Diabete di tipo 1 (IDDM), Atassia cerebellare ad evoluzione cronica ed Epilessia farmaco resistente.

Il rilevamento degli anticorpi avviene mediante diverse metodiche: RadioImmunoAnalisi (RIA); ChemiLuminescent ImmunoAssay (CLIA); Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA); Immunoistochimica e Western Blot. Delle metodiche quantitative, il CLIA è quello in uso dal 2018 nella routine della nostra Fondazione al posto del RIA ( Lab. Autoimmunità Pad. Devoto).

Nel nostro laboratorio invece gli anticorpi anti-GAD vengono indagati mediante Immunofluorescenza Indiretta (IIF) su cervelletto di scimmia e confermati in Immunoblot (IB) con la proteina ricombinante GAD65.

I campioni di siero di una piccola corte di pazienti affetti da SMS (8), afferenti alla Neurologia della nostra Fondazione dal 2012 al 2019, testati per la ricerca di anticorpi anti-GAD, sono risultati tutti positivi al quantitativo mediante CLIA ed 1/8 negativo ad entrambe le nostre metodiche.

Allo scopo di comprendere la discordanza rilevata ed inoltre il motivo per cui, i dati a confronto relativi ai campioni positivi risultavano inversamente proporzionali rispetto a quanto riscontrato in passato, abbiamo indagato sulla recente metodica quantitativa in uso.

Da quanto emerso, la curva standard costruita per le metodiche quantitative in commercio quali il CLIA ed anche l' ELISA, utilizzano come calibratori i campioni dei pazienti positivi agli anticorpi anti-GAD affetti da IDDM e non da SMS. Nel nostro caso specifico, la paziente risultava anche affetta da IDDM e da altre comorbidità autoimmuni.

Dati di letteratura mostrano differenze degli anticorpi anti-GAD tra i pazienti affetti da SMS e da IDDM. Innanzitutto, i pazienti con SMS presentano titoli anticorpali più alti. Tali anticorpi reagiscono con la GAD in Western Blot e con la proteina ricombinante GAD65, mentre ciò non si verifica nei pazienti con IDDM. L'attività enzimatica della GAD è inibita in modo

dose-dipendente dai sieri di pazienti SMS positivi agli anticorpi anti-GAD ma non da quelli di pazienti con IDDM. Queste differenze potrebbero essere dovute al riconoscimento di diversi epitopi dell'antigene GAD65 suggerendo meccanismi autoimmunitari diversi delle due patologie.

Inoltre, gli anticorpi anti-GAD possono cross-reagire con siti leganti il GABA e/o con frammenti peptidici della GAD espressi alla superficie durante l'esocitosi del GABA.

Successivamente il dosaggio degli anticorpi anti-GAD su siero con la metodica ELISA ha confermato la positività ma con un titolo superiore al cut-off e molto elevato. Sarebbe utile quindi la messa a punto di un metodo quantitativo adattato per la SMS e la ricerca degli anticorpi anti-GAD anche su liquor, come da raccomandazioni di linee guide recenti, soprattutto per i casi dubbi e/o con altre comorbidità autoimmuni.

### **Confronto dei fenotipi clinici di neuropatia identificati da differenti metodiche per la determinazione degli anticorpi anti-mag**

Questo studio è stato eseguito in collaborazione con il Dipartimento di Neuroscienze, Azienda Ospedaliero Universitaria Careggi di Firenze

La Polineuropatia (PN) associata a gammopatia monoclonale IgM e ad autoanticorpi anti-MAG (Glicoproteina Associata alla Mielina) è una PN pura o prevalentemente sensitiva con decorso clinico cronico. La demielinizzazione delle fibre nervose evidenziata mediante indagini elettrofisiologiche è prevalentemente distale, ma sono stati riportati diversi casi con neuropatia assonale e forme miste.

Gli anticorpi anti-MAG di classe IgM presenti nel siero dei pazienti possono essere rilevati mediante diverse metodiche: Western Blot (WB); Enzyme-Immuno-Assay (ELISA) ed immunofluorescenza indiretta (IFA) su nervo di scimmia e sul sistema nervoso centrale di ratto. La metodica in uso nel nostro laboratorio consiste nell'analisi delle proteine mediante WB e permette di rilevare gli autoanticorpi diretti contro gli antigeni della mielina umana del sistema nervoso centrale, attraverso il riconoscimento dell'epitopo trisaccaride HNK-1 (human natural killer-1) presente sulla MAG con due bande intorno ai 100 kDa.

Confrontando i nostri risultati con quelli ottenuti con le altre metodiche, il 53% dei sieri risultati positivi all'ELISA ha mostrato una positività anti-MAG al WB, di cui 11 con titolo anticorpale uguale o superiore al cut-off e nessuna correlazione è stata osservata con le caratteristiche cliniche ed elettrofisiologiche.

I risultati ottenuti con la metodica ELISA, molto più sensibile del WB correlano con una neuropatia prevalentemente assonale mentre tutti i pazienti positivi agli anticorpi anti-HNK-1 rilevati mediante IFA sul sistema nervoso centrale di ratto mostrano una PN demielinizzante classica prevalentemente distale con decorso benigno, suggerendo che le diverse metodiche per la determinazione degli autoanticorpi possono essere associate a fenotipi clinici diversi.

La determinazione degli anticorpi anti-HNK-1 mediante IFA potrebbe quindi rappresentare un metodo aggiuntivo a basso costo, specifico e sensibile da utilizzare per migliorare la diagnosi ed il monitoraggio degli opportuni trattamenti terapeutici.

Matà S, Ambrosini S, Saccomanno D, Biagioli T, Carpo M, Amantini A, Giannini F, Barilaro A, Toscani L, Del Mastio M, Comi GP, Sorbi S.

*Anti-MAG IgM: differences in antibody tests and correlation with clinical findings. Neurol Sci.* 2020 Feb;41(2):365-372. doi: 10.1007/s10072-019-04089-7. Epub 2019 Oct 25. PMID: 31654362. **IF = 1,447**

## Elenco delle Pubblicazioni Scientifiche

Montano V, Gruosso F, Carelli V, Comi GP, Filosto M, Lamperti C, Mongini T, Musumeci O, Servidei S, Tonin P, Toscano A, Modenese A, Primiano G, Valentino ML, Bortolani S, Marchet S, Meneri M, Tavilla G, Siciliano G, Mancuso M.

*Primary mitochondrial myopathy: Clinical features and outcome measures in 118 cases from Italy.*

**Neurol Genet.** 2020 Oct 20;6(6):e519. doi: 10.1212/NXG.0000000000000519. eCollection 2020 Dec. PMID: 33209982 Free PMC article. IF = 3,509

Ronchi D, Monfrini E, Bonato S, Mancinelli V, Cinnante C, Salani S, Bordoni A, Ciscato P, Fortunato F, Villa M, Di Fonzo A, Corti S, Bresolin N, Comi GP.

*Dystonia-ataxia syndrome with permanent torsional nystagmus caused by ECHS1 deficiency.*

**Ann Clin Transl Neurol.** 2020 May;7(5):839-845. doi: 10.1002/acn3.51025. Epub 2020 Apr 24. PMID: 32329585; PMCID: PMC7261751. IF = 4,870

Monfrini E, Ronchi D, Franco G, Garbellini M, Straniero L, Scola E, Arienti F, Duga S, Comi GP, Bresolin N, Di Fonzo A.

*Late-onset leukoencephalopathy in a patient with recessive EARS2 mutations.*

**Neurol Genet.** 2020 Jul 13;6(5):e488. doi: 10.1212/NXG.0000000000000488. PMID: 32802952; PMCID: PMC7413628. IF = 3,509

Brusa R, Mauri E, Dell'Arti L, Magri F, Ronchi D, Minorini V, Mainetti C, Gagliardi D, Faravelli I, Meneri M, Bresolin N, Viola F, Corti S, Comi GP.

*Expanding the clinical spectrum of the mitochondrial mutation A13084T in the ND5 gene.*

**Neurol Genet.** 2020 Sep 15;6(5):e511. doi: 10.1212/NXG.0000000000000511. PMID: 33062892; PMCID: PMC7524578. IF = 3,509

Ronchi D, Caporali L, Manenti GF, Meneri M, Mohamed S, Bordoni A, Tagliavini F, Contin M, Piga D, Sciacco M, Saetti C, Carelli V, Comi GP.

*TYMP Variants Result in Late-Onset Mitochondrial Myopathy With Altered Muscle Mitochondrial DNA Homeostasis.*

**Front Genet.** 2020 Aug 5;11:860. doi: 10.3389/fgene.2020.00860. PMID: 32849836; PMCID: PMC7419576. IF = 3,789

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

*Molecular Approaches for the Treatment of Pompe Disease.*

**Mol Neurobiol.** 2020 Feb;57(2):1259-1280. doi: 10.1007/s12035-019-01820-5. Epub 2019 Nov 12. PMID: 31713816. IF = 4,856

Alonso-Pérez J, González-Quereda L, Bello L, Guglieri M, Straub V, Gallano P, Semplicini C, Pegoraro E, Zangaro V, Nascimento A, Ortez C, Comi GP, Dam LT, De Visser M, van der Kooi AJ, Garrido C, Santos M, Schara U, Gangfuß A, Løkken N, Storgaard JH, Vissing J, Schoser B, Dekomien G, Udd B, Palmio J, D'Amico A, Politano L, Nigro V, Bruno C, Panicucci C, Sarkozy A, Abdel-Mannan O, Alonso-Jimenez A, Claeys KG, Gomez-Andrés D, Munell F, Costa-Comellas L, Haberlová J, Rohlenová M, Elke V, De Bleeker JL, Dominguez-González C, Tasca G, Weiss C, Deconinck N, Fernández-Torrón R, López de Munain A, Camacho-Salas A, Melegh B, Hadzsiev K, Leonardis L, Koritnik B, Garibaldi M, de Leon-Hernández JC, Malfatti E, Fraga-Bau A, Richard I, Illa I, Díaz-Manera J.

*New genotype-phenotype correlations in a large European cohort of patients with sarcoglycanopathy.*

**Brain.** 2020 Sep 1;143(9):2696-2708. doi: 10.1093/brain/awaa228. PMID: 32875335. IF = 11,337

Campbell C, Barohn RJ, Bertini E, Chabrol B, Comi GP, Darras BT, Finkel RS, Flanigan KM, Goemans N, Iannaccone ST, Jones KJ, Kirschner J, Mah JK, Mathews KD, McDonald CM, Mercuri E, Nevo Y, Péreón Y, Renfroe JB, Ryan MM, Sampson JB, Schara U, Sejersen T, Selby K, Tulinius M, Vélchez JJ, Voit T, Wei LJ, Wong BL, Elfring G, Souza M, McIntosh J, Trifillis P, Peltz SW, Muntoni F; PTC124-GD-007-DMD Study Group; ACT DMD Study Group; Clinical Evaluator Training Groups. *Meta-analyses of ataluren randomized controlled trials in nonsense mutation Duchenne muscular dystrophy.*

**J Comp Eff Res.** 2020 Oct;9(14):973-984. doi: 10.2217/cer-2020-0095. Epub 2020 Aug 27. PMID: 32851872. IF = 2,268

Goemans N, Signorovitch J, Sajeev G, Yao Z, Gordish-Dressman H, McDonald CM, Vandenborne K, Miller D, Ward SJ, Mercuri E; investigators from PRO-DMD-01 Study, CINRG DNHS, ImagingDMD, and the DMD Italian Group. *Suitability of external controls for drug evaluation in Duchenne muscular dystrophy.* **Neurology.** 2020 Sep 8;95(10):e1381-e1391. doi: 10.1212/WNL.00000000000010170. Epub 2020 Jul 1. PMID: 32611643; PMCID: PMC7538219. IF = 8,055

Magri F, Brusa R, Bello L, Peverelli L, Del Bo R, Govoni A, Cinnante C, Colombo I, Fortunato F, Tironi R, Corti S, Grimoldi N, Sciacco M, Bresolin N, Pegoraro E, Moggio M, Comi GP.

Limb girdle muscular dystrophy due to LAMA2 gene mutations: new mutations expand the clinical spectrum of a still challenging diagnosis.

**Acta Myol.** 2020 Jun 1;39(2):67-82. doi: 10.36185/2532-1900-009. PMID: 32904964; PMCID: PMC7460730.

Brusa R, Magri F, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

*Noncoding RNAs in Duchenne and Becker muscular dystrophies: role in pathogenesis and future prognostic and therapeutic perspectives.*

**Cell Mol Life Sci.** 2020 Nov;77(21):4299-4313. doi: 10.1007/s00018-020-03537-4. Epub 2020 Apr 29. PMID: 32350552. IF = 6,496

Telese R, Pagliarani S, Lerario A, Ciscato P, Fagiolari G, Cassandrini D, Grimoldi N, Conte G, Cinnante C, Santorelli FM, Comi GP, Sciacco M, Peverelli L.

*MYH2 myopathy, a new case expands the clinical and pathological spectrum of the recessive form.* **Mol Genet Genomic Med.** 2020 Sep;8(9):e1320. doi: 10.1002/mgg3.1320. Epub 2020 Jun 24. PMID: 32578970; PMCID: PMC7507101. IF = 2,797

Bello L, D'Angelo G, Villa M, Fusto A, Vianello S, Merlo B, Sabbatini D, Barp A, Gandossini S, Magri F, Comi GP, Pedemonte M, Tacchetti P, Lanzillotta V, Trucco F, D'Amico A, Bertini E, Astrea G, Politano L, Masson R, Baranello G, Albamonte E, De Mattia E, Rao F, Sansone VA, Previtali S, Messina S, Vita GL, Berardinelli A, Mongini T, Pini A, Pane M, Mercuri E, Vianello A, Bruno C, Hoffman EP, Morgenroth L, Gordish-Dressman H, McDonald CM; CINRG-DNHS Investigators, Pegoraro E.

*Genetic modifiers of respiratory function in Duchenne muscular dystrophy.*

**Ann Clin Transl Neurol.** 2020 May;7(5):786-798. doi: 10.1002/acn3.51046. Epub 2020 Apr 28. PMID: 32343055; PMCID: PMC7261745. IF = 4,870

Neri M, Rossi R, Trabanelli C, Mauro A, Selvatici R, Falzarano MS, Spedicato N, Margutti A, Rimessi P, Fortunato F, Fabris M, Gualandi F, Comi G, Tedeschi S, Seia M, Fiorillo C, Traverso M, Bruno C, Giardina E, Piemontese MR, Merla G, Cau M, Marica M, Scuderi C,

Borgione E, Tessa A, Astrea G, Santorelli FM, Merlini L, Mora M, Bernasconi P, Gibertini S, Sansone V, Mongini T, Berardinelli A, Pini A, Liguori R, Filosto M, Messina S, Vita G, Toscano A, Vita G, Pane M, Servidei S, Pegoraro E, Bello L, Travaglini L, Bertini E, D'Amico A, Ergoli M, Politano L, Torella A, Nigro V, Mercuri E, Ferlini A.

*The Genetic Landscape of Dystrophin Mutations in Italy: A Nationwide Study.*

**Front Genet.** 2020 Mar 3;11:131. doi: 10.3389/fgene.2020.00131. PMID: 32194622; PMCID: PMC7063120. IF = 3,789

Muntoni F, Bertini E, Comi G, Kirschner J, Lusakowska A, Mercuri E, Scoto M, van der Pol WL, Vuillerot C, Burdeska A, El-Khairi M, Fontoura P, Ives J, Gorni K, Reid C, Fuerst-Recktenwald S; OLEOS Study Group.

*Long-term follow-up of patients with type 2 and non-ambulant type 3 spinal muscular atrophy (SMA) treated with olesoxime in the OLEOS trial.*

**Neuromuscul Disord.** 2020 Dec;30(12):959-969. doi: 10.1016/j.nmd.2020.10.008. Epub 2020 Nov 5. PMID: 33246887. IF = 2,638

Maggi L, Bello L, Bonanno S, Govoni A, Caponnetto C, Passamano L, Grandis M, Trojsi F, Cerri F, Ferraro M, Bozzoni V, Caumo L, Piras R, Tanel R, Sacconi E, Meneri M, Vacchiano V, Ricci G, Soraru' G, D'Errico E, Tramacere I, Bortolani S, Pavesi G, Zanin R, Silvestrini M, Politano L, Schenone A, Previtali SC, Berardinelli A, Turri M, Verriello L, Coccia M, Mantegazza R, Liguori R, Filosto M, Marrosu G, Siciliano G, Simone IL, Mongini T, Comi G, Pegoraro E.

*Nusinersen safety and effects on motor function in adult spinal muscular atrophy type 2 and 3.*

**J Neurol Neurosurg Psychiatry.** 2020 Nov;91(11):1166-1174. doi: 10.1136/jnnp-2020-323822. Epub 2020 Sep 11. PMID: 32917822. IF = 8,234

Barp A, Carraro E, Albamonte E, Salmin F, Lunetta C, Comi GP, Messina C, Albano D, Chianca V, Sconfienza LM, Mercuri EM, Sansone VA.

*Muscle MRI in two SMA patients on nusinersen treatment: A two years follow-up.*

**J Neurol Sci.** 2020 Oct 15;417:117067. doi: 10.1016/j.jns.2020.117067. Epub 2020 Jul 29. PMID: 32745721 Free PMC article. IF = 3,115

Brogna C, Cristiano L, Verdolotti T, Pichiecchio A, Cinnante C, Sansone V, Sconfienza LM, Berardinelli A, Garibaldi M, Antonini G, Pane M, Pera MC, Antonaci L, Ficociello L, Albamonte E, Tasca G, Begliuomini C, Tartaglione T, Maggi L, Govoni A, Comi G, Colosimo C, Mercuri E.

*MRI patterns of muscle involvement in type 2 and 3 spinal muscular atrophy patients.*

**J Neurol.** 2020 Apr;267(4):898-912. doi: 10.1007/s00415-019-09646-w. Epub 2019 Nov 27. PMID: 31776722. IF = 3,783

Dewan R, Chia R, Ding J, Hickman RA, Stein TD, Abramzon Y, Ahmed S, Sabir MS, Portley MK, Tucci A, Ibáñez K, Shankaracharya FNU, Keagle P, Rossi G, Caroppo P, Tagliavini F, Waldo ML, Johansson PM, Nilsson CF; American Genome Center (TAGC); FALS Sequencing Consortium; Genomics England Research Consortium; International ALS/FTD Genomics Consortium (iAFGC); International FTD Genetics Consortium (IFGC); International LBD Genomics Consortium (iLBDGC); NYGC ALS Consortium; PROSPECT Consortium, Rowe JB, Benussi L, Binetti G, Ghidoni R, Jabbari E, Viollet C, Glass JD, Singleton AB, Silani V, Ross OA, Ryten M, Torkamani A, Tanaka T, Ferrucci L, Resnick SM, Pickering-Brown S, Brady CB, Kowal N, Hardy JA, Van Deerlin V, Vonsattel JP, Harms MB, Morris HR, Ferrari R, Landers JE, Chiò A, Gibbs JR, Dalgard CL, Scholz SW, Traynor BJ.

*Pathogenic Huntingtin Repeat Expansions in Patients with Frontotemporal Dementia and Amyotrophic Lateral Sclerosis.*

**Neuron.** 2020 Nov 26; S0896-6273(20)30883-7. doi: 10.1016/j.neuron.2020.11.005. Epub ahead of print. PMID: 33242422. IF = 14,40

Villa D, Cinnante C, Valcamonica G, Manenti G, Lanfranconi S, Colombi A, Ghione I, Saetti MC, D'Amico M, Bonato S, Bresolin N, Comi GP, Ronchi D.

*Hereditary hemorrhagic telangiectasia associated with cortical development malformation due to a start loss mutation in ENG. BMC*

**Neurol.** 2020 Aug 26;20(1):316. doi: 10.1186/s12883-020-01890-2. PMID: 32847536; PMCID: PMC7450577. IF = 2,356

Costamagna G, Meneri M, Abati E, Brusa R, Velardo D, Gagliardi D, Mauri E, Cinnante C, Bresolin N, Comi G, Corti S, Faravelli I.

*Hyperacute extensive spinal cord infarction and negative spine magnetic resonance imaging: a case report and review of the literature.*

**Medicine** (Baltimore). 2020 Oct 23;99(43):e22900. doi: 10.1097/MD.00000000000022900. PMID: 33120840; PMCID: PMC7581089. IF = 2,331

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

*Management of patients with neuromuscular disorders at the time of the SARS-CoV-2 pandemic.*

**J Neurol.** 2020 Aug 17;1–12. doi: 10.1007/s00415-020-10149-2. Epub ahead of print. PMID: 32804279; PMCID: PMC7429942. IF = 3,783

Abati E, Gagliardi D, Velardo D, Meneri M, Conte G, Cinnante C, Bresolin N, Comi G, Corti S.

*Herpes Simplex virus type 2 myeloradiculitis with a pure motor presentation in a liver transplant recipient.*

**Transpl Infect Dis.** 2020 Feb;22(1):e13236. doi: 10.1111/tid.13236. Epub 2020 Jan 1. PMID: 31868290. IF = 2,071

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

1. Mauri E, Magri F, Piga D, Brusa R, Govoni A, Ronchi D, Corti S, Comi GP. “Role of next generation sequencing in the diagnosis of congenital neuromuscular diseases: the experience of an Italian centre”. 6th Congress of the European Academy of Neurology - 1st Virtual Congress, 23-26/5/2020.

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

1. Velardo D, Andreoli L, Abati E, Costamagna G, Gagliardi D, Faravelli I, Mauri E, Brusa R, Meneri M, Magri F, Ciscato P, Sciacco M, Cinnante C, Corti S, Bresolin N, Comi GP. “Anti-hmgcr necrotizing myopathy: clinico-pathological, biochemical and radiological characterization in a single center experience”. 51th Congress of the Italian Neurological Society (SIN), 28-30/11/2020.
2. Gagliardi D, Costamagna G, Abati E, Mauri E, Brusa R, Magri F, Meneri M, Velardo D, Sciacco M, Bresolin N, Corti S, Comi GP. “Impact of covid-19 on patients with neuromuscular disorders in lombardy area, Italy”. 51th Congress of the Italian Neurological Society (SIN), 28-30/11/2020.
3. Ronchi D, Caporali L, Manenti G, Meneri M, Mohamed S, Contin M, Piga D, Mancinelli V, Corti S, Sciacco M, Carelli V, Comi GP. “TYMP mutations result in



- late onset mitochondrial myopathy with altered muscle mtDNA homeostasis*". 51th Congress of the Italian Neurological Society (SIN), 28-30/11/2020.
4. Magri F, Manenti G, Brusa R, Ciscato P, Del Bo R, Fortunato F, Lucchiari S, Pagliarani S, Piga D, Velardo D, Sansone V, Mongini T, Gandossini S, Corti S, Moggio M, Comi GP, Ronchi D. "*Unusual findings detected by diagnostic gene panel sequencing applied to heterogenous neuromuscular disorders*". Congresso Congiunto AIM/ASNP, digital edition 9-12/12 2020.
  5. Brusa R, Magri F, Difonzo T, Velardo D, Corti S, Moggio M, Saetti MC, Comi GP. "*Neuropsychological profile of Becker Muscular Dystrophy*". Congresso Congiunto AIM/ASNP, digital edition 9-12/12 2020.
  6. Meneri M, Velardo D, Magri M, Andreoli L, De Rosa A, Brusa R, Mauri M, Martinato C, Peverelli L, Ciscato P, Corti S, Cinnante C, Moggio M, Sciacco M, Comi GP. "*Clinico-pathological features in patients with anti-HMGCR immune-mediated necrotizing myopathy: a single-center experience*". Congresso Congiunto AIM/ASNP, digital edition 9-12/12 2020.
  7. A. Gallone, R. Brugnoli, A. Ardisson, E. Terlizzi, R. Masson, G. Ricci, F. Magri, F. Guidolin, M.L. Valentino, D. Frattini, C. Bonanno, M. Catteruccia, A. Malandrini, G. Primiano, C. Antozzi, P. Confalonieri, G. Tasca, M. Monforte, E. Ricci, G. Astrea, C. Ticci, M. Garibaldi, D. Orsucci, F. Ricci, M.T. Ferrò, V.A. Donadio, A. Gentili, E. Bertini, G. Siciliano, D. Piga, G.P. Comi, R. Liguori, I. Moroni, F.M. Santorelli, S. Servidei, A. D'Amico, G. Antonini, A. Evoli, D. Sternberg, D. Beeson, A. Engel, H. Lochmüller, R. Mantegazza, P. Bernasconi, C. Rodolico, L. Maggi. "*Congenital Myasthenic Syndromes: a large Italian cohort of patients*". Congresso Congiunto AIM/ASNP, digital edition 9-12/12 2020.
  8. G. Ricci, A. Govoni, I. Bortone, L. Billeci, A. Borelli, L. Manca, R. Liguori, M. Coccia, G. Comi, G. Siciliano. "*Proposal of new functional motor scales to evaluate muscle fatigue in adult SMA patients*". Congresso Congiunto AIM/ASNP, digital edition 9-12/12 2020.
  9. G.P. Comi "*Innovative strategies therapeutic in Muscle dystrophies*". Congresso Congiunto AIM/ASNP, digital edition 9-12/12 2020.
  10. L. Maggi, L. Bello, S. Bonanno, A. Govoni, M. Grandis, L. Passamano, F. Trojsi, F. Cerri, V. Bozzoni, L. Caumo, R. Piras, R. Tanel, E. Saccani, M. Meneri, V. Vacchiano, G. Ricci, E. D'Errico, S. Bortolani, R. Zanin, L. Politano, A. Schenone, S. Previtali, A. Berardinelli, M. Turri, L. Verriello, M. Coccia, R. Liguori, M. Filosto, G. Marrosu, G. Siciliano, I.L. Simone, T. Mongini, G.P. Comi, E. Pegoraro. "*Nusinersen safety and effects on motor function in adult spinal muscular atrophy type 2 and 3*". Congresso Congiunto AIM/ASNP, digital edition 9-12/12 2020.
  11. O. Musumeci, S. Servidei, T. Mongini, S. Ravaglia, G.P. Comi, F. Santorelli, V. Tugnoli, G. Antonini, E. Pennisi, L. Ruggero, G. Siciliano, C. Sancricca, F. Ricci, R. Brusa, A. Rubegni, E. Sette, M. Garibaldi, G. Ricci, A. Toscano. "*Long-term follow up in presymptomatic LOPD patients (PRELOPD STUDY). An Italian Neuromuscular Centers Experience*". Congresso Congiunto AIM/ASNP, digital edition 9-12/12 2020.
  12. S. Lucchiari, F. Magri, G.P. Comi, M. Sciacco. "*Myotonic Dystrophy type 2 unmasked by physical exercise following COVID-19 lockdown*". Congresso Congiunto AIM/ASNP, digital edition 9-12/12 2020.
  13. D. Velardo, M. Ripolone, F. Magri, R. Brusa, A. Govoni, S. Cazzaniga, L. Peverelli, P. Ciscato, S. Zanotti, M. Sciacco, M. Moggio, P. Bettica, G.P. Comi. "*Histopathological features in ambulant patients with Becker Muscular Dystrophy: preliminary data from the Givinostat trial cohort*". Congresso Congiunto AIM/ASNP, digital edition 9-12/12 2020.

14. D. Velardo, L. Peverelli, A. De Rosa, E. Domina, P. Ciscato, G. Sita, M. Sciacco, M. Moggio, G.P. Comi. “*Severe inflammatory myopathy in a pulmonary carcinoma patient treated with Pembrolizumab: an alert for myologists*”. Congresso Congiunto AIM/ASNP, digital edition 9-12/12 2020.
15. M. Sciacco, M. Ripolone, L. Napoli, D. Piga, D. Velardo, P. Ciscato, M. Moggio, G.P. Comi, D. Ronchi. “*Familial mitochondrial myopathy and renal failure due to biallelic MGME1 mutations*”. Congresso Congiunto AIM/ASNP, digital edition 9-12/12 2020.

**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

**Finanziamenti per progetti di ricerca ottenuti da enti pubblici o privati**

- 1) RICERCA FINALIZZATA 2013 (Ministero della Salute): Principal Investigator: Giacomo Comi (Coordinatore: Istituto Auxologico Italiano, Vincenzo Silani), Project Title: “ALS and FTD: changing paradigms in the genotype-phenotype correlation due to C9orf72 and other gene characterization”
- 2) FONDAZIONE REGIONALE PER LA RICERCA BIOMEDICA (FRRB): Principal Investigator: Giacomo Comi, Project Title: “Translating molecular mechanisms to ALS risk and patient’s well-being (TRANS-ALS)”
- 3) REGIONE LOMBARDIA, PROGRAMMA OPERATIVO REGIONALE 2014-2020: Principal Investigator: Giacomo Comi, Project Title: “ITF-Becker: nuovo approccio terapeutico alla distrofia muscolare di Becker (DMB)”
- 4) RICERCA FINALIZZATA 2016 (Ministero della Salute): Principal Investigator: Giacomo Comi, Project Title: “A novel stem cell therapy for Amyotrophic Lateral Sclerosis targeting upper motor neurons”.

## **LABORATORIO CELLULE STAMINALI NEURALI**

### **RESPONSABILE:**

**Prof.ssa Stefania Corti**

### **MEDICI:**

Dott. Irene Faravelli

Dott. Alessandra Govoni

Dott. Delia Gagliardi

Dott. Elena Abati

Dott. Gianluca Costamagna

### **BIOLOGI:**

Dott. Sabrina Salani

Dott. Federica Rizzo

Dott. Valeria Parente

Dott. Roberta De Gioia

Dott. Linda Ottoboni

### **BIOTECNOLOGI:**

Dott. Monica Nizzardo

Dott. Paola Rinchetti

Dott. Mafalda Rizzuti

Dott. Michela Taiana

Dott. Valentina Melzi

Dott. Margherita Bersani

Dott. Noemi Galli

Dott. Fabio Biella

Dott. Elisa Pagliari

### **TECNICI DI LABORATORIO:**

Dott. Stefano Bruno Ghezzi

Il Laboratorio di Cellule Staminali Neurali svolge la propria attività di ricerca nell'ambito dello studio dei meccanismi patogenetici e dello sviluppo di strategie terapeutiche cellulari e molecolari per le malattie del motoneurone, neurodegenerative e neuromuscolari. In particolare le patologie oggetto di studio sono l'Atrofia Muscolare Spinale (SMA), l'Atrofia Muscolare Spinale con Distress Respiratorio (SMARD1), entrambe ad esordio infantile, la Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA), ad esordio adulto, e le neuropatie ereditarie come la Malattia di Charcot-Marie-Tooth di tipo 2A (CMT2A). Al fine di analizzare i meccanismi molecolari delle patologie e le potenzialità terapeutiche delle nuove strategie sviluppate, sono utilizzati modelli cellulari *in vitro* derivati da cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC) ottenute mediante la riprogrammazione di cellule somatiche adulte; tale strategia permette di poter utilizzare modelli cellulari paziente specifici. Le iPSC inoltre sono utilizzate come sorgente cellulare per strategie di tipo cellulo-mediato: il trapianto di cellule staminali risulta infatti essere un possibile approccio terapeutico per le malattie neurodegenerative, che agisce sia mediante la sostituzione cellulare che con meccanismi di tipo neuroprotettivo. Nel nostro laboratorio sono inoltre sviluppate strategie di terapia genica che prevedono l'utilizzo di vettori adeno-associati (AAV) e di terapia molecolare con oligonucleotidi antisenso con chimica morfolino (MO).

Sono qui presentati in sintesi i risultati ottenuti dalle nostre ricerche nel 2020.

#### **Studio dell'interazione neurone-astrocita in modelli di Sclerosi Laterale Amiotrofica utilizzando il flusso di lavoro multimodale bioinformatico integrato. (Mishra et al., 2020)**

Le comunicazioni tra cellule sono determinanti critiche dei fenotipi fisiopatologici, ma mancano metodologie per la loro sistematica chiarificazione. Qui, proponiamo un approccio bioinformatico per l'elucidazione sistematica e la valutazione delle reti di interazione regolatrice tra cellula e cellula (SEARCHIN) per identificare le interazioni mediate dai ligandi tra i distinti compartimenti cellulari. Per testare questo approccio, abbiamo selezionato un modello di Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA), in cui gli astrociti che esprimono superossido dismutasi-1 mutante (mutSOD1) esercitano un'azione tossica sui motoneuroni (MN) mediante un meccanismo sconosciuto. La nostra analisi integrativa, che combina la proteomica e l'analisi delle reti di regolazione, è in grado di dedurre l'interazione tra l'astrocita che rilascia la proteina precursore dell'amiloide (APP) e il recettore della morte-6 (DR6) sui motoneuroni come la coppia più probabile di ligando-recettore. Il ruolo deleterio di APP e DR6 è stato confermato *in vitro* nei modelli di SLA. Inoltre, la riduzione dell'espressione della proteina DR6 nei motoneuroni di modelli murini mutanti SOD1 transgenici attenua il fenotipo SLA. I nostri risultati supportano l'utilità di un approccio integrativo dei sistemi biologici per acquisire informazioni su processi complessi di malattie neurologiche come la SLA. Ci aspettiamo che la metodologia proposta non avrà un'applicazione limitata solo a questo contesto biologico ma potrà essere utilizzata in una varietà di altri studi di meccanismi di comunicazione cellulare non autonoma.

Mishra V, Re DB, Le Verche V, Alvarez MJ, Vasciaveo A, Jacquier A, Doulias PT, Greco TM, Nizzardo M, Papadimitriou D, Nagata T, Rinchetti P, Perez-Torres EJ, Politi KA, Ikiz B, Clare K, Than ME, Corti S, Ischiropoulos H, Lotti F, Califano A, Przedborski S.

*Systematic elucidation of neuron-astrocyte interaction in models of amyotrophic lateral sclerosis using multi-modal integrated bioinformatics workflow.*

**Nat Commun.** 2020 Nov 4;11(1):5579. doi: 10.1038/s41467-020-19177-y. PMID: 33149111; PMCID: PMC7642391.

#### **Modelli animali di CMT2A: stato dell'arte e implicazioni terapeutiche. (De Gioia et al., 2020)**

La malattia di Charcot-Marie-Tooth di tipo 2A (CMT2A), causata da mutazioni del gene della mitofusina 2 (*MFN2*), è la neuropatia assonale ereditaria più comune che colpisce i neuroni motori e sensoriali. I meccanismi cellulari e molecolari mediante i quali le mutazioni *MFN2* determinano la degenerazione neuronale sono in gran parte poco chiari. Non esiste un trattamento efficace per CMT2A, che ha un alto grado di eterogeneità genetica/fenotipica. L'identificazione di mutazioni in *MFN2* ha consentito la generazione di diversi modelli animali transgenici, ma ad oggi la loro capacità di riprodurre il fenotipo della CMT2A è limitata, precludendo approfondimenti sulla sua patogenesi e la scoperta di strategie terapeutiche. In questa review presentiamo in modo critico i recenti progressi sugli attuali modelli in vivo della malattia CMT2A, le scoperte, gli svantaggi e i limiti, le sfide attuali e le riflessioni chiave per un avanzamento verso lo sviluppo di terapie efficaci per questi pazienti.

De Gioia R, Citterio G, Abati E, Nizzardo M, Bresolin N, Comi GP, Corti S, Rizzo F.

*Animal Models of CMT2A: State-of-art and Therapeutic Implications*. Mol Neurobiol. 2020 Dec;57(12):5121-5129. doi: 10.1007/s12035-020-02081-3. Epub 2020 Aug 27. PMID: 32856204; PMCID: PMC7541381.

### **Trapianto di cellule staminali neurali per malattie neurodegenerative. (De Gioia et al., 2020)**

Le malattie neurodegenerative sono disturbi neurologici invalidanti e fatali che attualmente non dispongono di cure efficaci. Il trapianto di cellule staminali neurali (NSC) è stato studiato come potenziale approccio terapeutico e sembra esercitare un effetto benefico contro la neurodegenerazione attraverso diversi meccanismi, come la produzione di fattori neurotrofici, la diminuzione della neuroinfiammazione, l'aumento della plasticità neuronale e la sostituzione cellulare. Pertanto, il trapianto di NSC può rappresentare una strategia terapeutica efficace. Per sfruttare il potenziale di queste cellule, alcune delle loro caratteristiche biologiche essenziali devono essere studiate a fondo, compresi i marcatori specifici per le sottopopolazioni di NSC, al fine di consentire la loro profilazione e selezione. Un'altra caratteristica fondamentale è il loro secretoma, che è responsabile della regolazione della comunicazione intercellulare, della neuroprotezione e dell'immunomodulazione. Inoltre, le NSC devono migrare correttamente nel sistema nervoso centrale (SNC) e integrarsi nei circuiti neuronali dell'ospite, migliorando la neuroplasticità. Comprendere e modulare questi aspetti può permetterci di sfruttare ulteriormente il potenziale terapeutico delle NSC. I recenti progressi nell'editing genico e nelle tecniche di ingegneria cellulare hanno aperto la possibilità di modificare le NSC facendole esprimere molecole candidate selezionate per migliorare ulteriormente i loro effetti terapeutici. Questa review riassume le attuali conoscenze su questi aspetti, promuovendo lo sviluppo di terapie con cellule staminali che potrebbero essere applicate in modo sicuro ed efficace in ambito clinico.

De Gioia R, Biella F, Citterio G, Rizzo F, Abati E, Nizzardo M, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

*Neural Stem Cell Transplantation for Neurodegenerative Diseases*.

**Int J Mol Sci.** 2020 Apr 28;21(9):3103. doi: 10.3390/ijms21093103. PMID: 32354178; PMCID: PMC7247151.

### **miR-129-5p: un fattore chiave ed un target terapeutico nella Sclerosi Laterale Amiotrofica. (Loffreda et al., 2020)**

La Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA) è una malattia neurodegenerativa fatale caratterizzata dalla degenerazione selettiva dei motoneuroni. Ad oggi, non esiste nessuna terapia efficace per questa malattia. Diverse evidenze indicano che l'alterazione del metabolismo dell'RNA, incluso il processing dei microRNA (miRNA), sia un fattore patogenetico rilevante ed un

possibile bersaglio terapeutico per la SLA. In questo lavoro abbiamo identificato un'alterazione nel processing dei miRNA in un modello cellulare della patologia associato a mutazioni nel gene SOD1, che suggerisce una conseguente disregolazione della biogenesi dei miRNA. In particolare, tra i miRNA alterati, i livelli di espressione del miR-129-5p risultano aumentati in diversi modelli di SLA associati a mutazioni nel gene SOD1 ed in cellule del sangue di pazienti affetti da una forma sporadica della malattia. Abbiamo dimostrato che l'upregolazione del miR-129-5p causa la riduzione di uno dei suoi bersagli: ELAVL4/HuD, che regola diversi mRNA con un ruolo fondamentale a livello neuronale. Abbiamo dimostrato che l'upregolazione del pre-miR-129-1 è in grado di inibire la crescita ed il differenziamento dei neuriti *in vitro* tramite il silenziamento di HuD, mentre la sua inibizione con un antagomir è in grado di revertire il fenotipo. Infine, abbiamo dimostrato che la somministrazione *in vivo* di un oligonucleotide antisense (ASO) in grado di inibire il miR-129-5p, determina un aumento significativo della sopravvivenza in un modello murino della patologia (topi SOD1G93A) e ne migliora il fenotipo neuromuscolare. Questi risultati identificano il miR-129-5p come potenziale target terapeutico suscettibile di modulazione mediante ASO per il trattamento dei pazienti affetti da SLA.

Loffreda A, Nizzardo M, Arosio A, Ruepp MD, Calogero RA, Volinia S, Galasso M, Bendotti C, Ferrarese C, Lunetta C, Rizzuti M, Ronchi AE, Mühlemann O, Tremolizzo L, Corti S, Barabino SML.

*miR-129-5p: A key factor and therapeutic target in amyotrophic lateral sclerosis.*

**Prog Neurobiol.** 2020 Jul;190:101803. doi: 10.1016/j.pneurobio.2020.101803. Epub 2020 Apr 24. PMID: 32335272.

### **Comprensione attuale ed opzioni di trattamento emergenti per l'Atrofia Muscolare Spinale con Distress Respiratorio di tipo 1 (SMARD1). (Perego et al., 2020)**

L'Atrofia Muscolare Spinale con Distress Respiratorio di tipo 1 (SMARD1) è una malattia autosomica recessiva del motoneurone caratterizzata da debolezza nei muscoli distali e prossimali e dalla paralisi del diaframma che comporta distress respiratorio. Senza alcun intervento, i neonati con una forma grave di questa malattia muoiono entro i 2 anni di vita. La SMARD1 è causata da mutazioni nel gene *IGHMBP2*, le quali determinano un deficit nella proteina codificata *IGHMBP2*, che svolge un ruolo critico nella sopravvivenza dei motoneuroni grazie alle sue funzioni legate alla processazione e alla maturazione del mRNA. Sebbene sia molto rara, la SMARD1 è la seconda malattia del motoneurone più comune che insorge nell'infanzia, e attualmente esistono principalmente solo trattamenti di supporto. Non esiste alcuna terapia efficace contro questa malattia devastante, malgrado negli ultimi anni le cure multidisciplinari abbiano rappresentato un elemento essenziale nel migliorare la qualità e l'aspettativa di vita dei pazienti. Gli obiettivi di questa review sono la discussione delle attuali conoscenze sulla SMARD1 attraverso un riassunto delle informazioni che si conoscono attualmente sulla sua manifestazione clinica e sulla sua patogenesi, e la discussione degli approcci terapeutici emergenti. I progressi nell'assistenza clinica hanno esteso significativamente la vita degli individui affetti da SMARD1 e la ricerca nell'ambito dei meccanismi molecolari che determinano la malattia ha identificato potenziali strategie di intervento mirate alle cause della SMARD1. La terapia genica con sostituzione o correzione del gene fornisce un potenziale tipo di terapia trasformativa per arrestare o possibilmente prevenire la neurodegenerazione nei pazienti affetti da SMARD1. La recente approvazione della prima terapia genica per la SMA, una patologia associata a mutazioni nel gene *SMN1*, potrebbe rappresentare un punto di svolta per l'applicazione di tale strategia anche per la SMARD1 e altre malattie neurologiche di origine genetica.

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

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

**Cell Mol Life Sci.** 2020 Sep;77(17):3351-3367. doi: 10.1007/s00018-020-03492-0. Epub 2020 Mar 2. PMID: 32123965.

### **La Synaptotagmina 13 è protettiva per le malattie del motoneurone. (Nizzardo et al., 2020)**

Nella Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA) e nell'Atrofia Muscolare Spinale (SMA), i motoneuroni spinali e quelli del tronco encefalico inferiore subiscono una degenerazione, mentre alcuni sottotipi di motoneuroni vengono risparmiati, inclusi i neuroni oculomotori (OMN). I meccanismi responsabili di questa degenerazione selettiva sono in gran parte sconosciuti, ma le caratteristiche molecolari dei motoneuroni resistenti e di quelli vulnerabili sono distinte e offrono indizi sulla stabilità e suscettibilità neuronale. In questo lavoro dimostriamo che i neuroni oculomotori sani esprimono preferenzialmente Synaptotagmina 13 (SYT13) rispetto ai motoneuroni spinali. Nei pazienti con SLA allo stadio terminale, SYT13 è aumentata sia nei neuroni oculomotori che nei restanti motoneuroni spinali relativamente resistenti rispetto ai controlli. La maggior espressione di SYT13 nei motoneuroni dei pazienti SLA e SMA, *in vitro*, migliora la loro sopravvivenza e aumenta le lunghezze degli assoni. La terapia genica con Syt13 prolunga la durata della vita dei modelli murini SLA del 14% e dei modelli murini SMA del 50% preservando i motoneuroni e ritardando la denervazione muscolare. SYT13 riduce lo stress del reticolo endoplasmatico e l'apoptosi dei motoneuroni, sia *in vitro* che *in vivo*. Pertanto, SYT13 è un fattore di resistenza in grado di proteggere i motoneuroni ed è un possibile candidato terapeutico tra le malattie che colpiscono i motoneuroni.

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

*Synaptotagmin 13 is neuroprotective across motor neuron diseases.*

**Acta Neuropathol.** 2020 May;139(5):837-853. doi: 10.1007/s00401-020-02133-x. Epub 2020 Feb 17. PMID: 32065260; PMCID: PMC7181443.

### **Atrofia Muscolare Spinale con Distress Respiratorio di tipo 1: fenotipi clinici, patogenesi molecolare e approfondimenti terapeutici. (Saladini e al., 2020)**

L'atrofia Muscolare Spinale con Distress Respiratorio di tipo 1 (SMARD1) è un raro disordine neuromuscolare autosomico recessivo causato da mutazioni nel gene *IGHMBP2*, che codifica per la proteina immunoglobulin  $\mu$ -binding protein 2 (IGHMBP2), la cui riduzione causa una progressiva degenerazione dei motoneuroni. In questa revisione della letteratura, ricapitoliamo le informazioni attualmente disponibili nel settore sulla SMARD1. La grande maggioranza dei pazienti mostra l'insorgenza dei sintomi tipici durante il primo anno di vita. Le principali caratteristiche cliniche sono l'atrofia dei muscoli distali e la paralisi del diaframma, che richiede ventilazione di supporto permanente. Al momento non esiste alcuna terapia efficace, ma nuovi approcci terapeutici come la terapia genica hanno mostrato dei risultati incoraggianti a livello preclinico e dunque rappresentano una possibile strategia per il trattamento della SMARD1. I significativi progressi nella comprensione sia dello spettro clinico della SMARD1 sia dei suoi meccanismi molecolari hanno reso possibile una rapida traslazione delle strategie terapeutiche dalla fase preclinica ai pazienti, in modo tale da migliorare la prognosi di questa devastante malattia.

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

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

**J Cell Mol Med.** 2020 Jan;24(2):1169-1178. doi: 10.1111/jcmm.14874. Epub 2019 Dec 4. PMID: 31802621; PMCID: PMC6991628.

### **Atrofia Muscolare Spinale: sfide nell'era terapeutica. (Faravelli et al., 2020)**

Con l'avvento di terapie per l'atrofia muscolare spinale in grado di modificare il decorso di malattia, le alterazioni prenatali ed extra-neurologiche associate con tale patologia hanno ricevuto una crescente attenzione in quanto possibili determinanti della finestra terapeutica e dell'efficacia dei nuovi farmaci. Due studi recenti evidenziano l'impatto dell'atrofia muscolare spinale sullo sviluppo osseo e d'organo prenatale.

Faravelli I, Corti S.

*Spinal muscular atrophy - challenges in the therapeutic era.*

**Nat Rev Neurol.** 2020 Dec;16(12):655-656. doi: 10.1038/s41582-020-00411-6. PMID: 32918067.

### **Vescicole extracellulari e Sclerosi Laterale Amiotrofica: da veicoli di proteine tossiche a promettenti biomarcatori clinici (Gagliardi et al., 2020)**

Le vescicole extracellulari (EV) sono piccoli depositi di diverse molecole e importanti mediatori della comunicazione tra cellule. Come presunti veicoli di propagazione delle proteine mal ripiegate tra le cellule, hanno attirato una notevole attenzione nel campo della Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA) e di altre malattie neurodegenerative. Inoltre, data la rilevanza dell'omeostasi dell'RNA nella patogenesi della malattia, il rilascio di RNA non codificante mediato da esosomi può svolgere un ruolo cruciale nella SLA. Potendo entrare nella circolazione sistemica ed essere facilmente rilevabili nei fluidi biologici dei pazienti, le vescicole extracellulari hanno generato un ampio interesse sia come biomarcatori diagnostici e prognostici, sia come preziosi strumenti per comprendere la patogenesi della malattia. Qui, dopo una breve introduzione sulla biogenesi e le funzioni delle vescicole extracellulari, ci proponiamo di indagare il loro ruolo nelle malattie neurodegenerative, nello specifico nella SLA. In particolare, ci concentriamo sulle principali evidenze a supporto della trasmissione di proteine e RNA mediata dalle vescicole extracellulari nei modelli *in vitro* e *in vivo* della SLA. Quindi, forniamo un resoconto delle applicazioni cliniche delle vescicole extracellulari, riassumendo gli studi più importanti in grado di rilevare le vescicole extracellulari nel sangue e nel liquido cerebrospinale dei pazienti affetti da SLA, alla base del loro potenziale utilizzo diagnostico e prognostico. Infine, esploriamo le applicazioni terapeutiche delle vescicole extracellulari nella SLA, come bersagli o come veicoli di proteine, acidi nucleici e molecole farmacologiche.

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

*Extracellular vesicles and amyotrophic lateral sclerosis: from misfolded protein vehicles to promising clinical biomarkers.*

**Cell Mol Life Sci.** 2020 Aug 16. doi: 10.1007/s00018-020-03619-3. Epub ahead of print. PMID: 32803397.

### **Coinvolgimento delle cellule gliali nell'atrofia muscolare spinale: la SMA potrebbe essere una malattia neuroinfiammatoria? (Abati et al., 2020)**

L'atrofia Muscolare Spinale (SMA) è una patologia ereditaria severa, caratterizzata dalla progressiva degenerazione e morte dei motoneuroni delle corna anteriori del midollo spinale, che determina atrofia muscolare e ipostenia di gravità variabile. La sua forma ad esordio precoce è invariabilmente fatale nella prima infanzia, mentre forme più lievi possono portare a disabilità permanente, deformità fisiche e complicanze respiratorie. Recentemente, sono



state approvate due nuove e rivoluzionarie terapie: gli oligonucleotidi antisenso e la terapia genica, che potrebbero rivelarsi efficaci nel migliorare la sopravvivenza a lungo termine di questi pazienti. In questa prospettiva, si rende cruciale stabilire una profonda conoscenza dei meccanismi patogenetici della SMA e del loro impatto sulle interazioni tra neuroni e altre tipologie di cellule all'interno del sistema nervoso centrale. Studi su modelli cellulari e animali di SMA ci hanno insegnato che la sopravvivenza e la funzionalità dei motoneuroni sono strettamente dipendenti da altre tipologie cellulari, come ad esempio le cellule gliali, che sono responsabili di diverse funzioni come il supporto trofico neuronale, il rimodellamento sinaptico e la sorveglianza immunitaria. Pertanto ne risulta che la SMA sembri essere una patologia multifattoriale e multicellulare, in cui le interazioni tra diverse tipologie cellulari e diversi meccanismi patogenetici porta alla degenerazione e perdita di motoneuroni. Questa review descrive le diverse tipologie cellulari all'interno del SNC e fornisce una panoramica del ruolo delle cellule gliali nella degenerazione motoneuronale nella SMA. Inoltre, discute la rilevanza di queste scoperte ed il potenziale impatto sui successi delle terapie disponibili ed in via di sviluppo.

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

*Glial cells involvement in spinal muscular atrophy: Could SMA be a neuroinflammatory disease?*

**Neurobiol Dis.** 2020 Jul;140:104870. doi: 10.1016/j.nbd.2020.104870. Epub 2020 Apr 12. PMID: 32294521.

### **Silenziamento della uperossido dismutasi 1 (SOD1): un promettente target terapeutico per la Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA). (Abati et al., 2020)**

La Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA) è una patologia neurodegenerativa progressiva ed incurabile che colpisce il primo e il secondo motoneurone conducendo a paralisi muscolare fatale. Mutazioni nel gene della uperossido dismutasi 1 (*SOD1*) sono responsabili di circa il 15% dei casi familiari, ma diversi studi hanno indicato che le disfunzioni di SOD1 possano avere un ruolo patogenetico anche nella SLA di tipo sporadico. La SOD1 mutata induce numerosi effetti tossici attraverso il misfolding patologico e l'aggregazione delle proteine SOD1 mutate; pertanto una promettente strategia terapeutica per le SLA SOD1-relate potrebbe essere quella di diminuire i livelli delle forme mutanti tossiche. Sono stati testati diversi metodi per modulare l'espressione genica di SOD1 *in vivo*, fra cui la tecnica del RNA interference, gli oligonucleotidi antisenso (ASO) e CRISPR/Cas9. Questo lavoro fornisce una attenta considerazione degli approcci correnti ed i progressi fatti finora per il silenziamento genico della SOD1 *in vivo*. Fa poi luce sui risultati chiave e sui limiti di questi studi ed evidenzia le sfide future e le nuove prospettive nel campo. Le strategie di silenziamento genico dirette verso SOD1 possono rappresentare approcci efficaci per le SLA sporadiche e familiari. Tuttavia, è necessario minimizzare il rischio di effetti off-target e sviluppare strategie di somministrazione minimamente invasive.

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

*Silence superoxide dismutase 1 (SOD1): a promising therapeutic target for amyotrophic lateral sclerosis (ALS).*

**Expert Opin Ther Targets.** 2020 Apr;24(4):295-310. doi: 10.1080/14728222.2020.1738390. Epub 2020 Mar 14. PMID: 32125907.

### **Trattamento con Nusinersen e neurofilamenti del liquido cerebrospinale: studio esplorativo su pazienti con Atrofia Muscolare Spinale di tipo 3. (Faravelli et al., 2020)**

L'oligonucleotide antisenso Nusinersen è stato recentemente approvato per il trattamento dell'Atrofia Muscolare Spinale (SMA). Dal momento che la SMA di tipo 3 è caratterizzata da

un fenotipo variabile e da una progressione più lenta, sono urgentemente necessari dei biomarker di risposta precoce al trattamento. Abbiamo valutato la concentrazione di neurofilamenti nel liquor di pazienti affetti da SMA di tipo 3 trattati con Nusinersen, come potenziale biomarker di efficacia del trattamento. La concentrazione dei neurofilamenti a catena pesante fosforilata e catena leggera è stata valutata immediatamente prima e sei mesi dopo la prima somministrazione di Nusinersen, tramite una metodica ELISA commercialmente disponibile. La valutazione clinica dei pazienti SMA è stata eseguita con scale motorie funzionali standardizzate. I livelli di neurofilamenti al baseline nei pazienti sono risultati comparabili ai controlli, ma sono diminuiti significativamente dopo sei mesi di trattamento, mentre le scale motorie funzionali sono migliorate marginalmente. Nessuna correlazione statisticamente significativa è stata osservata tra la variazione della funzione motoria e quella dei neurofilamenti nel tempo. La riduzione dei livelli di neurofilamenti dopo il trattamento suggerisce un possibile effetto precoce sulla degenerazione assonale, che potrebbe precedere le variazioni nella performance motoria. Il nostro lavoro suggerisce la necessità di ulteriori studi per valutare i neurofilamenti come potenziale marker di risposta al trattamento.

Faravelli I, Meneri M, Saccomanno D, Velardo D, Abati E, Gagliardi D, Parente V, Petrozzi L, Ronchi D, Stocchetti N, Calderini E, D'Angelo G, Chidini G, Prandi E, Ricci G, Siciliano G, Bresolin N, Comi GP, Corti S, Magri F, Govoni A.

*Nusinersen treatment and cerebrospinal fluid neurofilaments: An explorative study on Spinal Muscular Atrophy type 3 patients.*

**J Cell Mol Med.** 2020 Mar;24(5):3034-3039. doi: 10.1111/jcmm.14939. Epub 2020 Feb 7. PMID: 32032473; PMCID: PMC7077557.

### **Organoidi di cervello umano per studiare la neurodegenerazione. (Faravelli et al., 2020)**

Le patologie neurodegenerative costituiscono un importante problema in termini di risorse individuali, sociali ed economiche. Nessuna terapia è ad oggi risolutiva per queste condizioni; lo sviluppo e la morfologia dell'encefalo umano non possono essere interamente riprodotte in modelli sperimentali animali, e le differenze genomiche, metaboliche e biochimiche tra questi modelli e l'uomo possono contribuire al limitato potere traslazionale di questi studi. Per queste ragioni, lo sviluppo di organoidi cerebrali umani potrebbe consentire di esplorare le caratteristiche fisiologiche e patologiche della neurodegenerazione con esordio precoce. Inoltre, lo sviluppo del sistema nervoso centrale ha acquisito un ruolo cruciale nello studio della patogenesi delle malattie neurodegenerative. Alterazioni premature durante lo sviluppo encefalico sono state collegate a manifestazioni tardive; mutazioni genetiche alla base della neurodegenerazione sono state riscontrate in geni altamente espressi durante lo sviluppo neurale. Chiarire i meccanismi che determinano la suscettibilità neuronale alla degenerazione è fondamentale per gli studi di patogenesi e per la scoperta di nuovi trattamenti. In questo lavoro, forniamo una panoramica generale sulle attuali applicazioni degli organoidi cerebrali umani allo studio delle malattie neurodegenerative, riassumendo le scoperte più recenti e con una discussione circa le sfide presenti e le prospettive future.

Faravelli I, Costamagna G, Tamanini S, Corti S. *Back to the origins: Human brain organoids to investigate neurodegeneration.*

**Brain Res.** 2020 Jan 15;1727:146561. doi: 10.1016/j.brainres.2019.146561. Epub 2019 Nov 20. PMID: 31758922.

### **Spunti sui meccanismi di malattia e sulle potenziali terapie per la sclerosi laterale amiotrofica demenza frontotemporale correlata a C9orf72 (Gagliardi et al., 2020)**

Nel 2011, l'espansione ripetuta di un esanucleotide nella regione non codificante di *C9orf72* è stata associata alla causa genetica più frequente di demenza frontotemporale (FTD) e Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA). I principali meccanismi patogenetici nella SLA/FTD correlata a *C9orf72* sono l'aploinsufficienza della proteina C9orf72 e l'acquisto di funzione tossica dovuta a RNA ripetuti contenenti ripetizioni trascritte bidirezionalmente e ai dipeptidi (DPR) derivanti da un meccanismo di traduzione non canonica dell'RNA. Inoltre, le anomalie in diversi meccanismi cellulari a valle, come il trasporto nucleocitoplasmatico e l'autofagia, giocano un ruolo importante nella patogenesi. I notevoli sforzi di ricerca basati su modelli in vitro e in vivo hanno fornito preziose informazioni sul contributo di ciascun meccanismo nella patogenesi della malattia. Tuttavia, esistono prove contrastanti e manca ancora una teoria unificante. In questa review, forniamo una rassegna della letteratura recentemente pubblicata sulle caratteristiche cliniche, neuropatologiche e molecolari della SLA/FTD correlata a *C9orf72*. Evidenziamo il presunto ruolo neuronale di *C9orf72* e la cascata patogena dell'espansione esanucleotidica, concentrandoci principalmente sul contributo degli RNA foci e dei DPR alla neurodegenerazione e discutendone i diversi meccanismi a valle. Inoltre, forniamo una sinossi riguardante gli emergenti biomarcatori biochimici e di neuroimaging, nonché i potenziali approcci terapeutici. Nonostante i risultati promettenti, ad oggi non è ancora disponibile uno specifico trattamento per la malattia e un maggior approfondimento sui meccanismi patogenetici possono aiutare in questa direzione.

Gagliardi D, Costamagna G, Taiana M, Andreoli L, Biella F, Bersani M, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

*Insights into disease mechanisms and potential therapeutics for C9orf72-related amyotrophic lateral sclerosis/frontotemporal dementia.*

**Ageing Res Rev.** 2020 Dec;64:101172. doi: 10.1016/j.arr.2020.101172. Epub 2020 Sep 22. PMID: 32971256.

### **Pubblicazioni scientifiche su riviste peer-reviewed**

Mishra V, Re DB, Le Verche V, Alvarez MJ, Vasciaveo A, Jacquier A, Doulias PT, Greco TM, Nizzardo M, Papadimitriou D, Nagata T, Rinchetti P, Perez-Torres EJ, Politi KA, Ikiz B, Clare K, Than ME, Corti S, Ischiropoulos H, Lotti F, Califano A, Przedborski S.

*Systematic elucidation of neuron-astrocyte interaction in models of amyotrophic lateral sclerosis using multi-modal integrated bioinformatics workflow.*

**Nat Commun.** 2020 Nov 4;11(1):5579. doi: 10.1038/s41467-020-19177-y. PMID: 33149111; PMCID: PMC7642391.

De Gioia R, Citterio G, Abati E, Nizzardo M, Bresolin N, Comi GP, Corti S, Rizzo F.

*Animal Models of CMT2A: State-of-art and Therapeutic Implications.*

**Mol Neurobiol.** 2020 Dec;57(12):5121-5129. doi: 10.1007/s12035-020-02081-3. Epub 2020 Aug 27. PMID: 32856204; PMCID: PMC7541381.

De Gioia R, Biella F, Citterio G, Rizzo F, Abati E, Nizzardo M, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

*Neural Stem Cell Transplantation for Neurodegenerative Diseases.*

**Int J Mol Sci.** 2020 Apr 28;21(9):3103. doi: 10.3390/ijms21093103. PMID: 32354178; PMCID: PMC7247151.

Loffreda A, Nizzardo M, Arosio A, Ruepp MD, Calogero RA, Volinia S, Galasso M, Bendotti C, Ferrarese C, Lunetta C, Rizzuti M, Ronchi AE, Mühlemann O, Tremolizzo L, Corti S, Barabino SML.

*miR-129-5p: A key factor and therapeutic target in amyotrophic lateral sclerosis.*

**Prog Neurobiol.** 2020 Jul;190:101803. doi: 10.1016/j.pneurobio.2020.101803. Epub 2020 Apr 24. PMID: 32335272.

Perego MGL, Galli N, Nizzardo M, Govoni A, Taiana M, Bresolin N, Comi GP, Corti S.  
*Current understanding of and emerging treatment options for spinal muscular atrophy with respiratory distress type 1 (SMARD1).*

**Cell Mol Life Sci.** 2020 Sep;77(17):3351-3367. doi: 10.1007/s00018-020-03492-0. Epub 2020 Mar 2. PMID: 32123965.

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

*Synaptotagmin 13 is neuroprotective across motor neuron diseases.*

**Acta Neuropathol.** 2020 May;139(5):837-853. doi: 10.1007/s00401-020-02133-x. Epub 2020 Feb 17. PMID: 32065260; PMCID: PMC7181443.

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

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

**J Cell Mol Med.** 2020 Jan;24(2):1169-1178. doi: 10.1111/jcmm.14874. Epub 2019 Dec 4. PMID: 31802621; PMCID: PMC6991628.

Dewan R, Chia R, Ding J, Hickman RA, Stein TD, Abramzon Y, Ahmed S, Sabir MS, Portley MK, Tucci A, Ibáñez K, Shankaracharya FNU, Keagle P, Rossi G, Caroppo P, Tagliavini F, Waldo ML, Johansson PM, Nilsson CF; American Genome Center (TAGC); FALS Sequencing Consortium; Genomics England Research Consortium; International ALS/FTD Genomics Consortium (iAFGC); International FTD Genetics Consortium (IFGC); International LBD Genomics Consortium (iLBDGC); NYGC ALS Consortium; PROSPECT Consortium, Rowe JB, Benussi L, Binetti G, Ghidoni R, Jabbari E, Viollet C, Glass JD, Singleton AB, Silani V, Ross OA, Ryten M, Torkamani A, Tanaka T, Ferrucci L, Resnick SM, Pickering-Brown S, Brady CB, Kowal N, Hardy JA, Van Deerlin V, Vonsattel JP, Harms MB, Morris HR, Ferrari R, Landers JE, Chiò A, Gibbs JR, Dalgard CL, Scholz SW, Traynor BJ.

*Pathogenic Huntingtin Repeat Expansions in Patients with Frontotemporal Dementia and Amyotrophic Lateral Sclerosis.*

**Neuron.** 2020 Nov 26;S0896-6273(20)30883-7. doi: 10.1016/j.neuron.2020.11.005. Epub ahead of print. PMID: 33242422.

Costamagna G, Meneri M, Abati E, Brusa R, Velardo D, Gagliardi D, Mauri E, Cinnante C, Bresolin N, Comi G, Corti S, Faravelli I.

*Hyperacute extensive spinal cord infarction and negative spine magnetic resonance imaging: a case report and review of the literature.*

**Medicine** (Baltimore). 2020 Oct 23;99(43):e22900. doi: 10.1097/MD.00000000000022900. PMID: 33120840; PMCID: PMC7581089.

Faravelli I, Corti S.

*Spinal muscular atrophy - challenges in the therapeutic era.*

**Nat Rev Neurol.** 2020 Dec;16(12):655-656. doi: 10.1038/s41582-020-00411-6. PMID: 32918067.

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

*Management of patients with neuromuscular disorders at the time of the SARS-CoV-2 pandemic.*

**J Neurol.** 2020 Aug 17;1–12. doi: 10.1007/s00415-020-10149-2. Epub ahead of print. PMID: 32804279; PMCID: PMC7429942.

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

*Extracellular vesicles and amyotrophic lateral sclerosis: from misfolded protein vehicles to promising clinical biomarkers.*

**Cell Mol Life Sci.** 2020 Aug 16. doi: 10.1007/s00018-020-03619-3. Epub ahead of print. PMID: 32803397.

Brusa R, Magri F, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

*Noncoding RNAs in Duchenne and Becker muscular dystrophies: role in pathogenesis and future prognostic and therapeutic perspectives.*

**Cell Mol Life Sci.** 2020 Nov;77(21):4299-4313. doi: 10.1007/s00018-020-03537-4. Epub 2020 Apr 29. PMID: 32350552.

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

*Glial cells involvement in spinal muscular atrophy: Could SMA be a neuroinflammatory disease?* **Neurobiol Dis.** 2020 Jul;140:104870. doi: 10.1016/j.nbd.2020.104870.

Epub 2020 Apr 12. PMID: 32294521.

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

*Silence superoxide dismutase 1 (SOD1): a promising therapeutic target for amyotrophic lateral sclerosis (ALS).*

**Expert Opin Ther Targets.** 2020 Apr;24(4):295-310. doi: 10.1080/14728222.2020.1738390. Epub 2020 Mar 14. PMID: 32125907.

Faravelli I, Meneri M, Saccomanno D, Velardo D, Abati E, Gagliardi D, Parente V, Petrozzi L, Ronchi D, Stocchetti N, Calderini E, D'Angelo G, Chidini G, Prandi E, Ricci G, Siciliano G, Bresolin N, Comi GP, Corti S, Magri F, Govoni A.

*Nusinersen treatment and cerebrospinal fluid neurofilaments: An explorative study on Spinal Muscular Atrophy type 3 patients.*

**J Cell Mol Med.** 2020 Mar;24(5):3034-3039. doi: 10.1111/jcmm.14939. Epub 2020 Feb 7. PMID: 32032473; PMCID: PMC7077557.

Abati E, Gagliardi D, Velardo D, Meneri M, Conte G, Cinnante C, Bresolin N, Comi G, Corti S.

*Herpes Simplex virus type 2 myeloradiculitis with a pure motor presentation in a liver transplant recipient.*

**Transpl Infect Dis.** 2020 Feb;22(1):e13236. doi: 10.1111/tid.13236. Epub 2020 Jan 1. PMID: 31868290.

Faravelli I, Costamagna G, Tamanini S, Corti S.

*Back to the origins: Human brain organoids to investigate neurodegeneration.*

**Brain Res.** 2020 Jan 15;1727:146561. doi: 10.1016/j.brainres.2019.146561. Epub 2019 Nov 20. PMID: 31758922.

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

*Molecular Approaches for the Treatment of Pompe Disease.*

**Mol Neurobiol.** 2020 Feb;57(2):1259-1280. doi: 10.1007/s12035-019-01820-5. Epub 2019 Nov 12. PMID: 31713816.

20. Gagliardi D, Costamagna G, Taiana M, Andreoli L, Biella F, Bersani M, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

**Abstract presentati a congressi scientifici internazionali**

1. Mercuri E, Baranello G, Day JW, Bruno C, Corti S, Chiriboga CA, Crawford TO, Darras BT, Finkel RS, Connolly AM, Iannaccone ST, Kuntz NL, Masson R, Pena LDM, Shieh PB, Smith EC, Saito K, Scoto M, Loukes J, Shultz M, Feltner DE, Ouyang H, Lavrov A, Kernbauer E, Williamson S, Sproule DM, Mendell JR, Muntoni F. *“Onasemnogene Abeparvovec Gene Replacement Therapy (GRT) for Spinal Muscular Atrophy Type 1 (SMA1): Pivotal Phase 3 Studies Clinical Update (STRIVE-EU and STRIVE-US)”*. BPNA 2020: British Paediatric Neurology Association - 46th Annual Conference Jan 29-31, 2020 Belfast Ireland.
2. Mercuri E, Baranello G, Bruno C, Chiriboga CA, Connolly AM, Corti S, Crawford TO, Darras BT, Day JW, Finkel RS, Iannaccone ST, Kuntz NL, Masson R, Pena LDM, Scoto M, Servais L, Shieh PS, Smith EC, Benguerba K, Shultz M, Feltner DE, Tausher-Wisniewski S, Ogrinc H, Ouyang H, Menier M, Lavrov A, Macek T, Kernbauer E, Berkhout H, Thomasma P, Sproule DM, Mendell JR, Muntoni F. *“Onasemnogene Abeparvovec Gene Replacement Therapy (GRT) for Spinal Muscular Atrophy Type 1 (SMA1): Pivotal Phase 3 Studies Clinical Update (STRIVE-EU and STRIVE-US)”*. SFNP 2020, January 15–17, 2020, Toulouse, France.
3. Mercuri E, Aurore D, Baranello G, Boespflug-Tanguy O, Bruno C, Corti S, Chiriboga CA, Crawford TO, Darras BT, Day JW, Deconinck N, Finkel RS, Connolly AM, Iannaccone ST, Kuntz NL, Masson R, Peña LDM, Schultz M, Servais L, Shieh PB, Smith EC, Scoto MSK, Straub V, Feltner DE, Tausher-Wisniewski S, Ogrinc F, Ouyang H, Menier M, Lavrov A, Macek T, Kernbauer E, Berkhout H, Thomasma P, Sproule DM, Mendell JR, Muntoni F. *“Onasemnogene Abeparvovec Gene Replacement Therapy for Spinal Muscular Atrophy Type 1: Pivotal Studies Clinical Update (STRIVE-EU and STRIVE)”*. SMA-EU 2020: SMA Europe - 2nd International Scientific Congress on Spinal Muscular Atrophy Feb 05, 2020 - Feb 07, 2020 Paris, France.
4. Mercuri E, Baranello G, Masson R, Boespflug-Tanguy O, Bruno C, Corti S, Daron A, Deconinck N, Scoto M, Servais L, Straub V, Ogrinc FG, Ouyang H, Sproule DM, Wisniewski ST, Baldinetti F, Chand D, Feltner DE, Lavrov A, Muntoni F. *“Onasemnogene Abeparvovec Gene Therapy for Spinal Muscular Atrophy Type 1: Phase 3 Study Update (STRIVE-EU)”*. CNMD 2020: Centre for Neuromuscular Diseases - 13th UK Neuromuscular Translational Research Conference Apr 22, 2020 - Apr 23, 2020 London, United Kingdom.
5. Mercuri E, Baranello G, Masson R, Boespflug-Tanguy O, Bruno C, Corti S, Daron A, Deconinck N, Scoto M, Servais L, Kausar I, Straub V, Ogrinc FG, Ouyang H, Sproule DM, Tauscher-Wisniewski S, Baldinetti F, Chand D, Feltner DE, Lavrov A, Muntoni F. *“Onasemnogene Abeparvovec Gene Therapy for Spinal Muscular Atrophy Type 1: Phase 3 Study Update (STRIVE-EU)”*. ABN 2020, 13–15 May 2020, Bournemouth, UK.
6. Mauri E, Magri F, Piga D, Brusa R, Govoni A, Ronchi D, Corti S, Comi GP. *“Role of next generation sequencing in the diagnosis of congenital neuromuscular diseases: the*

experience of an Italian centre". 6th Congress of the European Academy of Neurology - 1st Virtual Congress, 23-26/5/2020.

7. Faravelli I, Rinchetti P, Mancinelli S, Mapelli L, Forotti G, Rizzuti M, Cordiglieri C, Moulton H, Bresolin N, Comi GP, D'angelo E, Lodato S, Nizzardo M, Corti S. "*Human Organoids to study and treat Spinal Muscular Atrophy*". EAN 2020 meeting.
8. Gagliardi D, Taiana M, Nizzardo M, Salani S, Bordoni A, Faravelli I, Bresolin N, Comi GP, Corti S. "*TDP-43 nucleo-cytoplasmic mislocalization can be rescued by antisense oligonucleotide treatment in ALS cell lines harboring C9orf72 mutation*". EAN 2020 meeting.
9. Mercuri E, Baranello G, Masson R, Boespflug-Tanguy O, Bruno C, Corti S, Daron A, Deconinck N, Scoto M, Servais L, Straub V, Ogrinc FG, Ouyang H, Sproule DM, Wisniewski ST, Baldinetti F, Chand D, Feltner DE, Lavrov A, Muntoni F. "*Onasemnogene Apeparvovec Gene Therapy for Spinal Muscular Atrophy Type 1: Phase 3 Study Update (STRIVE-EU)*". ICNMD 2020: International Congress on Neuromuscular Diseases – XV Jul 10, 2020 - Jul 14, 2020 Valencia, Spain.
10. Mercuri E, Baranello G, Masson R, Boespflug-Tanguy O, Bruno C, Corti S, Daron A, Deconinck N, Scoto M, Servais L, Straub V, Ogrinc FG, Ouyang H, Sproule DM, Tauscher-Wisniewski S, Manganaro S, Chand D, Feltner DE, Lavrov A, Muntoni F. "*Onasemnogene Apeparvovec-xioi Gene Therapy for Spinal Muscular Atrophy Type 1: Phase 3 Study Clinical Update (STRIVE-EU)*". CNS 2020, 19–23 October 2020, San Diego, CA, USA.
11. Mercuri E, Baranello G, Masson R, Boespflug-Tanguy O, Bruno C, Corti S, Daron A, Deconinck N, Scoto M, Servais L, Straub V, Ogrinc FG, Ouyang H, Sproule DM, Tauscher-Wisniewski S, Baldinetti F, Chand D, Feltner DE, Lavrov A, Muntoni F. "*Onasemnogene Apeparvovec gene therapy for spinal muscular atrophy type 1 (SMA1): phase 3 study update (STRIVE-EU)*". World Muscle Society - 25th International Congress, Halifax, Canada, start date Sep 30, 2020.
12. Sierra Delgado JA, Likhite S, McGovern V, Holbrook SE, Hufferberger A, Hicks AN, Nizzardo M, Dennys C, Ray SS, Corti S, Burghes A, Arnold WD, Cox GA, Meyer K. "*Multicenter blinded pre-clinical efficacy study in several mouse models underlines great promise of gene replacement therapy for smard1/cmt2s*". Nationwide Childrens' Hospital retreat 2020.
13. Mercuri E, Baranello G, Masson R, Boespflug-Tanguy O, Bruno C, Corti S, Daron A, Deconinck N, Scoto M, Servais L, Straub V, Ogrinc FG, Ouyang H, Sproule DM, Tauscher-Wisniewski S, Baldinetti F, Chand D, Feltner DE, Lavrov A, Muntoni F. "*Onasemnogene Apeparvovec gene therapy for spinal muscular atrophy type 1 (SMA1): phase 3 study update (STRIVE-EU)*". SFM 2020 congress (18th Annual meeting of the Societe Francaise de Myologie, Saint-Etienne, 25-27 November 2020).
14. Mercuri E, Baranello G, Masson R, Boespflug-Tanguy O, Bruno C, Corti S, Daron A, Deconinck N, Scoto M, Servais L, Straub V, Ouyang H, Tauscher-Wisniewski S, Chand D, Mendonca N, Lavrov A, Muntoni F. "*Onasemnogene Apeparvovec Gene Therapy for Spinal Muscular Atrophy Type 1: Phase III Study Update (STRIVE-EU)*". 47th Annual meeting of the British Paediatric Neurology Association (BPNA), Oxford, 6-8 January 2021.

15. Costamagna G, Biella F, Taiana M, Nizzardo M, Rizzuti M, Bresolin N, Comi GP, Faravelli I, Corti S. "*C9orf72 ALS human neural organoids for the development of new therapeutics and disease modeling*". 6th Congress of the European Academy of Neurology - 1st Virtual Congress, 23-26/5/2020.
16. Abati E, Rizzo F, De Gioia R, Bono S, Citterio G, Bresolin N, Comi GP, Nizzardo M, Corti S. "*Combination of RNA-Interference and Gene Therapy to Treat Charcot-Marie-Tooth Type 2A*". 6th Congress of the European Academy of Neurology - 1st Virtual Congress, 23-26/5/2020.
17. Gagliardi D, Taiana M, Nizzardo M, Salani S, Bordoni A, Faravelli I, Bresolin N, Comi GP, Corti S. "*TDP-43 nucleo-cytoplasmic mislocalization can be rescued by antisense oligonucleotide treatment in ALS cell lines harboring C9Orf72 mutation*". 6th Congress of the European Academy of Neurology - 1st Virtual Congress, 23-26/5/2020.
18. Gagliardi D, Taiana M, Nizzardo M, Salani S, Fortunato F, Bresolin N, Comi GP, Corti S. "*Unraveling the role of TDP43 proteinopathy and its therapeutic modulation in C9orf72-related and sporadic ALS in vitro models*". 31st International Symposium on ALS/MND, 9-11/12/2020.
19. Bersani M, Taiana M, Biella F, Nizzardo M, Ghezzi S, Bresolin N, Comi GP, Corti S. "*Changes in pathological phenotype of C9orf72 ALS iPSC-derived lines after treatment with Morpholino oligomers*". 31st International Symposium on ALS/MND, 9-11/12/2020.
20. Rizzuti M, Melzi V, Resnati D, Meneri M, Dioni L, Biella F, Bollati V, Barabino S, Comi GP, Nizzardo M, Corti S. "*Exploiting iPSC-derived motor neurons and exosomes for the development of a miRNA-based therapeutic strategy in ALS*". 31st International Symposium on ALS/MND, 9-11/12/2020.
21. Bersani M, Pagliari E, Rizzuti M, Bordoni A, Comi GP, Corti S, Nizzardo M. "*Cell Penetrating Peptide-conjugated Morpholino: treatment for SMA symptomatic cases*". 2nd International Scientific & Clinical Congress on Spinal Muscular Atrophy, 5-7/02/2020.
22. Taiana M, Galli N, Ghezzi SB, Bresolin N, Comi GP, Corti S, Nizzardo M. "*IGHMBP2 related pathological pathways in Spinal Muscular Atrophy with Respiratory Distress type 1 (SMARD1) in vitro models*". 2nd International Scientific & Clinical Congress on Spinal Muscular Atrophy, 5-7/02/2020.

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

1. Costamagna G, Biella F, Taiana M, Ghezzi SB, Comi GP, Faravelli I, Nizzardo M, Corti S. "*C9orf72 ALS human neural organoids for disease modeling and the development of new therapeutics*". 51th Congress of the Italian Neurological Society (SIN), 28-30/11/2020.
2. Costamagna G, Meneri M, Abati E, Brusa R, Velardo D, Gagliardi D, Mauri E, Cinnante C, Bresolin N, Comi GP, Corti S, Faravelli I. "*Hyperacute extensive spinal cord infarction and negative spine magnetic resonance imaging: a time-sensitive matter*". 51th Congress of the Italian Neurological Society (SIN), 28-30/11/2020.
3. Faravelli I, Rinchetti P, Mancinelli S, Mapelli L, Forotti G, Rizzuti M, Cordiglieri C, Moulton H, D'angelo E, Bresolin N, Comi GP, Lodato S, Nizzardo M, Corti S.



- “Human neural organoids to investigate spinal muscular atrophy pathology and therapy”*. 51th Congress of the Italian Neurological Society (SIN), 28-30/11/2020.
4. Velardo D, Andreoli L, Abati E, Costamagna G, Gagliardi D, Faravelli I, Mauri E, Brusa R, Meneri M, Magri F, Ciscato P, Sciacco M, Cinnante C, Corti S, Bresolin N, Comi GP. *“Anti-hmgcr necrotizing myopathy: clinico-pathological, biochemical and radiological characterization in a single center experience”*. 51th Congress of the Italian Neurological Society (SIN), 28-30/11/2020.
  5. Gagliardi D, Costamagna G, Abati E, Mauri E, Brusa R, Magri F, Meneri M, Velardo D, Sciacco M, Bresolin N, Corti S, Comi GP. *“Impact of covid-19 on patients with neuromuscular disorders in lombardy area, Italy”*. 51th Congress of the Italian Neurological Society (SIN), 28-30/11/2020.
  6. Ronchi D, Caporali L, Manenti G, Meneri M, Mohamed S, Contin M, Piga D, Mancinelli V, Corti S, Sciacco M, Carelli V, Comi GP. *“TYMP mutations result in late onset mitochondrial myopathy with altered muscle mtDNA homeostasis”*. 51th Congress of the Italian Neurological Society (SIN), 28-30/11/2020.
  7. Abati E, Rizzo F, De Gioia R, Bono S, Citterio G, Bresolin N, Comi GP, Nizzardo M, Corti S. *“Knockdown and Replacement of MFN2: a Gene Therapy to treat Dominantly Inherited Peripheral Neuropathy CMT2A”*. 51th Congress of the Italian Neurological Society (SIN), 28-30/11/2020.
  8. Costamagna G, Biella F, Taiana M, Nizzardo M, Rizzuti M, Bresolin N, Comi GP, Faravelli I, Corti S. *“C9orf72 ALS human neural organoids for the development of new therapeutics and disease modeling”*. 3rd MyDEV meeting, 20/11/2020.
  9. Faravelli I, Rinchetti P, Mancinelli S, Mapelli L, Forotti G, Rizzuti M, Cordiglieri C, D'angelo E, Bresolin N, Comi GP, Lodato S, Nizzardo M, Corti S. *“Development of human central nervous system organoids to model Spinal Muscular Atrophy”*. 3rd MyDEV meeting, 20/11/2020.
  10. De Gioia R, Nizzardo M, Bono S, Salani S, Melzi V, Pagliarani S, Abati E, Bresolin N, Comi GP, Corti S, Rizzo F. *“Unravelling combined RNA interference and gene therapy in vitro and in vivo disease models as a potential therapeutic strategy for CMT2A”*. Congresso Congiunto AIM/ASNP, digital edition 9-12/12 2020.
  11. Pagliari E, Bersani M, Rizzuti M, Bordoni A, Saccomanno D, Bresolin N, Comi GP, Corti S, Nizzardo M. *“CPPs-conjugated antisense nucleotides: a new therapeutic strategy for Spinal Muscular Atrophy symptomatic patients”*. Congresso Congiunto AIM/ASNP, digital edition 9-12/12 2020.
  12. Magri F, Manenti G, Brusa R, Ciscato P, Del Bo R, Fortunato F, Lucchiari S, Pagliarani S, Piga D, Velardo D, Sansone V, Mongini T, Gandossini S, Corti S, Moggio M, Comi GP, Ronchi D. *“Unusual findings detected by diagnostic gene panel sequencing applied to heterogenous neuromuscular disorders”*. Congresso Congiunto AIM/ASNP, digital edition 9-12/12 2020.
  13. Brusa R, Magri F, Difonzo T, Velardo D, Corti S, Moggio M, Saetti MC, Comi GP. *“Neuropsychological profile of Becker Muscular Dystrophy”*. Congresso Congiunto AIM/ASNP, digital edition 9-12/12 2020.
  14. Meneri M, Velardo D, Magri M, Andreoli L, De Rosa A, Brusa R, Mauri M, Matinato C, Peverelli L, Ciscato P, Corti S, Cinnante C, Moggio M, Sciacco M, Comi GP. *“Clinico-pathological features in patients with anti-HMGCR immune-mediated necrotizing myopathy: a single-center experience”*. Congresso Congiunto AIM/ASNP, digital edition 9-12/12 2020.
  15. Pagliari E, Bersani M, Rizzuti M, Bordoni A, Saccomanno D, Moulton HM, Bresolin N, Comi GP, Corti S, Nizzardo M. *“Cell Penetrating peptide-conjugated Morpholino rescues SMA in a symptomatic preclinical model”*. Motor Neuron

Diseases: understanding the pathogenetic mechanisms to develop therapies, 6-7/11/12.

16. Bersani M, Taiana M, Biella F, Nizzardo M, Ghezzi SB, Bresolin N, Comi GP, Corti S. “*Evaluation of Morpholino oligomers therapeutic efficacy in C9orf72 ALS iPSC-derived lines*”. Motor Neuron Diseases: understanding the pathogenetic mechanisms to develop therapies, 6-7/11/12.
17. Bersani M, Pagliari E, Rizzuti M, Bordoni A, Comi GP, Corti S, Nizzardo M. “*A new therapeutic strategy for Spinal Muscular Atrophy symptomatic patients: CPPs-conjugated antisense oligonucleotides*”. 3rd Brayn Conference 25-26/11/12
18. Pagliari E, Rinchetti P, Galli N, Ghezzi SB, Taiana M, Comi GP, Corti S, Nizzardo M. “*Optimization of AAV9 gene therapy for Spinal Muscular Atrophy with respiratory distress Type 1 using in vivo disease models*”. 3rd Brayn Conference 25-26/11/12

### **Collaborazioni scientifiche in atto con istituti nazionali ed internazionali:**

1. RISE CROSS-NEUROD 2018-2022— Transferring autonomous and non autonomous cell degeneration 3D models between EU and USA for development of effective therapies for neurodegenerative diseases (ND), Columbia University, NY, USA, Prof. S. Przedborski, director of the Center, and Prof. D. Re.
2. “Studio di nuovi approcci di terapia genica per l’Atrofia Muscolare Spinale (SMA) e l’atrofia muscolare spinale con Distress Respiratorio (SMARD1)”, Prof. Kathrin Mayer, Ph.D, Professore Associato, The Research Institute at Nationwide Children’s Hospital/ The Ohio State University, Center for Gene Therapy, Columbus, Ohio, USA.
3. “Identificazione di molecole con un ruolo neuroprotettivo nelle malattie del motoneurone”, Prof. Eva Hedlund, PhD, Professore Associato di Neurobiologia, Department of Neuroscience, Karolinska Institutet, Stockholm Sweden
4. “Studio di oligonucleotidi coniugati con peptidi per lo sviluppo di una strategia terapeutica della SMA”, Prof. H. Moulton Oregon University.
5. “Basi Molecolari della Sclerosi Laterale Amiotrofica” SLAGEN consortium
6. “European ALS population study”, EURALS Consortium
7. “Sviluppo di una strategia terapeutica per mitofusino-patie” in collaborazione con l’Associazione Mitofusina 2 (<http://www.progettomitofusina2.com/it/associazione>).
8. “Basi molecolari della SMA”, Dr. Uberto Pozzoli, IRCCS E. Medea Bosisio, Parini, Italy
9. “Studio dei meccanismi patogenetici e di possibili approcci terapeutici in Drosophila in comparazione con modelli umani”, Prof F. Feiguin, Centre for Genetic Engineering and Biotechnology Trieste.
10. ALS molecular therapy exploiting integrated small RNAs analysis of patient-derived induced pluripotent stem cells, Prof S. Barabino, Università degli studi di Milano-Bicocca.
11. Translating molecular mechanism into ALS risk and patient’s well being (TRANS-ALS) Prof. Cereda, IRCCS Istituto Neurologico Monidino, Prof. Ratti, Istituto Auxologico.
12. “MicroRNA profiling in iPSCs from an infantile ascending hereditary spastic paralysis patient reveals miR-376a, miR-432 and miR-451a involvement in neuronal differentiation: possible implications for motor neuron disease pathogenesis”, Dr. Bernasconi e Dr. Marcuzzo, Istituto Neurologico Besta.
13. “C. Elegans per lo studio di modificatori genetici della SMA e della SLA”, Dr. Di Schiavi, CNR di Napoli.

14. Prof. Antonia Ratti, Department of Neurology - Stroke Unit and Laboratory of Neuroscience, Istituto Auxologico Italiano, IRCCS, Milan
15. Prof. Jeroen Pasterkamp, Department of Translational Neuroscience, UMC Utrecht
16. Prof. Michela Deleidi, Department of Neurodegenerative Diseases, University of Tübingen
17. Prof. Philip Van Damme, University of Leuven
18. Prof. Stefano Stifani, Montreal Neurological Institute of McGill University
19. Francesco Lotti, PhD, Assistant Professor, Center for Motor Neuron Biology and Disease, Columbia University Medical Center, New York, NY 10032, USA.
20. Prof. Valentina Bollati, Dipartimento di Scienze Cliniche e di Comunità
21. Dr. Simona Lodato, Humanitas Research Center, Milano

#### **Finanziamenti per progetti di ricerca ottenuti da enti pubblici o privati**

1. RISE CROSS-NEUROD 2018-2022— “Transferring autonomous and non autonomous cell degeneration 3D models between EU and USA for development of effective therapies for neurodegenerative diseases (ND)”. (Finanziamento Comunità Europea).
2. European Union Erare grant 2019-2021. “INTEGRative multi-OMICs approaches on iPSC-derived 2D and 3D models to elucidate the role of immune and energy metabolism-related genes/pathways in Amyotrophic Lateral Sclerosis”. (Finanziamento Comunità Europea).
3. Ministero della Salute, Bando Ricerca Finalizzata 2019-2021. “3D human models to identify early neuronal vulnerability as a therapeutic target for ALS”.
4. Telethon grant 2019-2022. “Knockdown and Replacement of MFN2: a Gene Therapy to treat Dominantly Inherited Peripheral Neuropathy CMT2A”.
5. FRRB 2017-2020 – “Translating molecular mechanisms into ALS risk and patient’s well-being” (TRANS-ALS).
6. FRRB 2019-2022. “An integrated omics approach for patients with rare neurological disorders: towards personalized clinical care and trial readiness”. Care4NeuroRare.
7. SMA Europe 2019-2021: “Unravelling the role of Stathmin-2 in SMA as a key cause of MN vulnerability and as therapeutic target”.
8. Ministero della Salute, Bando Ricerca Finalizzata Giovani Ricercatori 2018-2021: “Unravelling therapeutic window and central nervous system delivery of AAV9-IGHMBP2 gene therapy for SMARD1” (GR-2016-02362377).
9. Ministero della Salute, Bando Ricerca Finalizzata Giovani Ricercatori 2019-2022: “Unravelling combined RNA interference and gene therapy *in vitro* and *in vivo* disease models as a potential therapeutic strategy for CMT2A”. (GR-2018-12365358).

#### **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.

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”. Brevetto congiunto UNIMI/IRCCS Foundation Ca' Granda e Research Institute at Nationwide Children's Hospital.

## **U.O.S.D. MALATTIE NEUROMUSCOLARI e RARE**

### **RESPONSABILE:**

Prof. Giacomo Pietro Comi

### **COLLABORATORI:**

Dott. Monica Sciacco:	Dirigente Medico Fondazione - Neurologo, Dottore di ricerca in Scienze Neurologiche, responsabile Servizio di Diagnostica Morfologica e "Banca tessuto muscolare scheletrico, nervo periferico, DNA e colture cellulari"
Dott. Daniele Velardo:	Neurologo - Contrattista Fondazione
Dott. Maurizio Moggio:	Neurologo – Consulente
Dott. Gigliola Fagiolari:	Biologo - Tecnico ospedaliero Fondazione
Dott. Patrizia Ciscato:	Tecnico ospedaliero Fondazione
Dott. Laura Napoli:	Biologo - Libero Professionista
Michela Ripolone:	Biologo - Collaboratore alla Ricerca Sanitaria
Simona Zanotti:	Biologo - Libero Professionista
Alessandra Pedrazzini:	Amministrativa - Borsista Fondazione

## ATTIVITÀ DIAGNOSTICA

- 1) Nell'anno 2020 l'attività assistenziale riguardante le malattie neuromuscolari risulta ridotta rispetto a quella dell'anno precedente a causa della pandemia SARS-Cov2.
- 2) Attività del Laboratorio per la diagnosi e lo studio delle Malattie Neuromuscolari:
  - studiate e refertate 90 biopsie muscolari, 9 biopsie di nervo.

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

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

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

- 3) Attività della “Banca di tessuti muscolari, nervo periferico, DNA e colture cellulari” della UOSD:
  - Sono state effettuate spedizioni di campioni biologici di pazienti affetti da malattie Rare Neuromuscolari a n. 6 centri di diagnostica e ricerca sia nazionali sia internazionali.
  - Sono state effettuate spedizioni per un totale di n. 17 campioni biologici (tessuti muscolari, DNA, colture).

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

- Dall'anno 1999 il Laboratorio ha avuto il riconoscimento di “Biobanca Telethon di tessuto muscolare scheletrico, nervo periferico, DNA e colture cellulari”. I diversi campioni biologici stoccati nella banca sono a disposizione dei ricercatori italiani e stranieri interessati e sono elencati in un dedicato sito web: <http://www.centrodinoferrari.com/laboratori/u-o-d-diagnostica-malattie-neuromuscolari-e-rare/>.
- Dall'anno 2001 la banca è parte dell'EuroBiobank, un network di banche di Istituti scientifici di diversi paesi della Comunità Europea.

- Dall'anno 2002 la banca è anche parte del Progetto Finalizzato dell'Ospedale Maggiore "Biorepository".
- Da Luglio 2002 l'Unità operativa ha ottenuto la certificazione ISO 9001:2000 per "Progettazione ed erogazione di servizi di diagnostica morfologica e ricerca nell'ambito di malattie rare neuromuscolari, in regime di degenza, ambulatoriale e in convenzione per enti terzi. Gestione di una Banca di tessuto muscolare, nervo periferico e DNA".
- Dal 2008 è partner del "Telethon Network of Genetic Biobanks".
- Da Luglio 2013 è entrata a far parte dell'Infrastruttura di ricerca europea Biobanking and Biomolecular Resources Research Infrastructure (BBMRI).
- Dal 2013 la Biobanca è parte di RD-Connect.

### ***Biopsie Muscolari***

#### Microscopia ottica

Durante l'anno 2020 sono state eseguite n. 90 biopsie muscolari indagate con metodiche istologiche, istoenzimatiche e immunoistochimiche.

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

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

Biopsie con il sospetto di IBM vengono studiate con la colorazione Rosso Congo. In totale, relativamente a quanto sopra specificato, sono stati eseguiti 1377 tests.

#### Microscopia elettronica

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

In particolare, vengono 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 infine analizzate tutte le biopsie nelle quali gli studi istologici, istoenzimologici, biochimici e genetici non sono indicativi di una particolare miopatia.

### ***Biopsie di nervo***

#### Microscopia ottica

Durante l'anno 2020 sono state eseguite n. 9 biopsie di nervo periferico. Tutti i prelievi biopsici sono 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.

Viene eseguita una valutazione quantitativa della densità delle fibre mieliniche con apposito analizzatore di immagini su sezioni semifini.

Di tutte le biopsie vengono allestite apposite preparazioni atte all'analisi di singole fibre nervose isolate (metodica del teasing) e per ogni paziente se ne studiano almeno 100.

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

Nel sospetto di patologia da accumulo di amiloidosi viene eseguita la colorazione per il rosso Congo.

#### Microscopia elettronica

Le biopsie di nervo sono state incluse in resine epossidiche e tecniche per le osservazioni in microscopia elettronica, per l'isolamento delle singole fibre nervose e per la valutazione quantitativa della densità fibrillare.

In particolare vengono studiate tutte le biopsie nelle quali gli esami istologici e quantitativi non riescono ad indirizzare la diagnosi verso una particolare neuropatia.

#### ATTIVITÀ DI RICERCA

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 2020 i seguenti risultati:

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

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

**Hum Mutat.** 2020 Jan;41(1):17-37.

doi: 10.1002/humu.23899. Epub 2019 Sep 15.PMID: 31448844

IF: 4,124

Mantero V, Rifino N, Costantino G, Farina A, Pozzetti U, Sciacco M, Ripolone M, Bianchi G, Salmaggi A, Rigamonti A.

*Non-alcoholic beriberi, Wernicke encephalopathy and long-term eating disorder: case report and a mini-review.*

**Eat Weight Disord.** 2020 Mar 4.

doi: 10.1007/s40519-020-00880-0. Online ahead of print.PMID: 32130681

IF: 3,634

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

*Value of insoluble PABPN1 accumulation in the diagnosis of oculopharyngeal muscular dystrophy.*

**Eur J Neurol.** 2020 Apr;27(4):709-715.

doi: 10.1111/ene.14131. Epub 2019 Dec 15.PMID: 31769567

IF: 4,516

Nikolic A, Jones TI, Govi M, Mele F, Maranda L, Sera F, Ricci G, Ruggiero L, Vercelli L, Portaro S, Villa L, Fiorillo C, Maggi L, Santoro L, Antonini G, Filosto M, Moggio M, Angelini C, Pegoraro E, Berardinelli A, Maioli MA, D'Angelo G, Di Muzio A, Siciliano G, Tomelleri G, D'Esposito M, Della Ragione F, Brancaccio A, Piras R, Rodolico C, Mongini T, Magdinier F, Salsi V, Jones PL, Tupler R.

*Interpretation of the Epigenetic Signature of Facioscapulohumeral Muscular Dystrophy in Light of Genotype-Phenotype Studies.*

**Int J Mol Sci.** 2020 Apr 10;21(7):2635.



doi: 10.3390/ijms21072635.PMID: 32290091 Free PMC article.  
IF: 4,556

Ruggiero L, Mele F, Manganelli F, Bruzzese D, Ricci G, Vercelli L, Govi M, Vallarola A, Tripodi S, Villa L, Di Muzio A, Scarlato M, Bucci E, Antonini G, Maggi L, Rodolico C, Tomelleri G, Filosto M, Previtali S, Angelini C, Berardinelli A, Pegoraro E, Moggio M, Mongini T, Siciliano G, Santoro L, Tupler R.

*Phenotypic Variability Among Patients With D4Z4 Reduced Allele Facioscapulohumeral Muscular Dystrophy.*

**JAMA Netw Open.** 2020 May 1;3(5):e204040.

doi: 10.1001/jamanetworkopen.2020.4040.PMID: 32356886 Free PMC article.  
IF: 5,032

Ronchi D, Monfrini E, Bonato S, Mancinelli V, Cinnante C, Salani S, Bordoni A, Ciscato P, Fortunato F, Villa M, Di Fonzo A, Corti S, Bresolin N, Comi GP.

*Dystonia-ataxia syndrome with permanent torsional nystagmus caused by ECHS1 deficiency.*

**Ann Clin Transl Neurol.** 2020 May;7(5):839-845.

doi: 10.1002/acn3.51025. Epub 2020 Apr 24.PMID: 32329585  
IF: 3,66

Velardo D, Faravelli I, Cinnante C, Moggio M, Comi GP.

*Pediatric anti-HMGCR necrotizing myopathy: diagnostic challenges and literature review.*

**Neurol Sci.** 2020 Oct;41(10):3009-3013.

doi: 10.1007/s10072-020-04491-6. Epub 2020 Jun 1.PMID: 32488450 No abstract available.  
IF: 2,415

Magri F, Brusa R, Bello L, Peverelli L, Del Bo R, Govoni A, Cinnante C, Colombo I, Fortunato F, Tironi R, Corti S, Grimoldi N, Sciacco M, Bresolin N, Pegoraro E, Moggio M, Comi GP.

*Limb girdle muscular dystrophy due to LAMA2 gene mutations: new mutations expand the clinical spectrum of a still challenging diagnosis.*

**Acta Myol.** 2020 Jun 1;39(2):67-82.

doi: 10.36185/2532-1900-009. eCollection 2020 Jun.PMID: 32904964 Free PMC article.  
IF: -

Mauri E, Abati E, Musumeci O, Rodolico C, D'Angelo MG, Mirabella M, Lucchini M, Bello L, Pegoraro E, Maggi L, Manneschi L, Gemelli C, Grandis M, Zuppa A, Massucco S, Benedetti L, Caponnetto C, Schenone A, Prella A, Previtali SC, Scarlato M, D'Amico A, Bertini E, Pennisi EM, De Giglio L, Pane M, Mercuri E, Mongini T, Ricci F, Berardinelli A, Astrea G, Lenzi S, Battini R, Ricci G, Torri F, Siciliano G, Santorelli FM, Ariatti A, Filosto M, Passamano L, Politano L, Scutifero M, Tonin P, Fossati B, Panicucci C, Bruno C, Ravaglia S, Monforte M, Tasca G, Ricci E, Petrucci A, Santoro L, Ruggiero L, Barp A, Albamonte E, Sansone V, Gagliardi D, Costamagna G, Govoni A, Magri F, Brusa R, Velardo D, Meneri M, Sciacco M, Corti S, Bresolin N, Moroni I, Messina S, Di Muzio A, Nigro V, Liguori R, Antonini G, Toscano A, Minetti C, Comi GP.

*A 5-year clinical follow-up study from the Italian National Registry for FSHD.*

*Estimating the impact of COVID-19 pandemic on services provided by Italian Neuromuscular Centers: an Italian Association of Myology survey of the acute phase.*

**Italian Association of Myology. Acta Myol.** 2020 Jun 1;39(2):57-66.

doi: 10.36185/2532-1900-008. eCollection 2020 Jun.PMID: 32904925 Free PMC article.  
IF: -

Vercelli L, Mele F, Ruggiero L, Sera F, Tripodi S, Ricci G, Vallarola A, Villa L, Govi M, Maranda L, Di Muzio A, Scarlato M, Bucci E, Maggi L, Rodolico C, Moggio M, Filosto M, Antonini G, Previtali S, Angelini C, Berardinelli A, Pegoraro E, Siciliano G, Tomelleri G, Santoro L, Mongini T, Tupler R.

*Phenotypic Variability Among Patients With D4Z4 Reduced Allele Facioscapulohumeral Muscular Dystrophy*

**J Neurol.** 2020 Aug 19.

doi: 10.1007/s00415-020-10144-7. Online ahead of print.PMID: 32813049

IF: 3,956

Giovarelli M, Zecchini S, Martini E, Garrè M, Barozzi S, Ripolone M, Napoli L, Coazzoli M, Vantaggiato C, Roux-Biejat P, Cervia D, Moscheni C, Perrotta C, Parazzoli D, Clementi E, De Palma C.

*Drp1 overexpression induces desmin disassembling and drives kinesin-1 activation promoting mitochondrial trafficking in skeletal muscle.*

**Cell Death Differ.** 2020 Aug;27(8):2383-2401.

doi: 10.1038/s41418-020-0510-7. Epub 2020 Feb 10.PMID: 32042098 Free PMC article.

IF: 10,717

Ronchi D, Caporali L, Manenti GF, Meneri M, Mohamed S, Bordoni A, Tagliavini F, Contin M, Piga D, Sciacco M, Saetti C, Carelli V, Comi GP.

*TYMP Variants Result in Late-Onset Mitochondrial Myopathy With Altered Muscle Mitochondrial DNA Homeostasis.*

**Front Genet.** 2020 Aug 5;11:860.

doi: 10.3389/fgene.2020.00860. eCollection 2020.PMID: 32849836 Free PMC article.

IF: 3,258

Telese R, Pagliarani S, Lerario A, Ciscato P, Fagiolari G, Cassandrini D, Grimoldi N, Conte G, Cinnante C, Santorelli FM, Comi GP, Sciacco M, Peverelli L.  
*MYH2 myopathy, a new case expands the clinical and pathological spectrum of the recessive form.*

**Mol Genet Genomic Med.** 2020 Sep;8(9):e1320. doi: 10.1002/mgg3.1320. Epub 2020 Jun 24.PMID: 32578970 Free PMC article

IF: 1,995

Peverelli L, De Rosa A, Domina E, Ciscato P, Sita G, Velardo D, Comi GP.

*Severe inflammatory myopathy in a pulmonary carcinoma patient treated with Pembrolizumab: An alert for myologists.*

**J Neuromuscul Dis.** 2020;7(4):511-514. doi: 10.3233/JND-200504. IF:-

Ricci G, Mele F, Govi M, Ruggiero L, Sera F, Vercelli L, Bettio C, Santoro L, Mongini T, Villa L, Moggio M, Filosto M, Scarlato M, Previtali SC, Tripodi SM, Pegoraro E, Telese R, Di Muzio A, Rodolico C, Bucci E, Antonini G, D'Angelo MG, Berardinelli A, Maggi L, Piras R, Maioli MA, Siciliano G, Tomelleri G, Angelini C, Tupler R.

*Large genotype-phenotype study in carriers of D4Z4 borderline alleles provides guidance for facioscapulohumeral muscular dystrophy diagnosis.*

**Sci Rep.** 2020 Dec 10;10(1):21648. doi: 10.1038/s41598-020-78578-7.

PMID: 33303865 Free PMC article.

Inoltre, in collaborazione con il Laboratorio di Biochimica, Genetica e Colture Cellulari, nel 2019 sono stati pubblicati i seguenti lavori:

Pagliarani S, Lucchiari S, Scarlato M, Redaelli E, Modoni A, Magri F, Fossati B, Previtali SC, Sansone VA, Lecchi M, Lo Monaco M, Meola G, Comi GP.

*Sodium Channel Myotonia Due to Novel Mutations in Domain I of Nav1.4.*

**Front Neurol.** 2020 Apr 29;11:255.

doi: 10.3389/fneur.2020.00255. eCollection 2020.PMID: 32411069

IF: 2.889

Maggi L, Bello L, Bonanno S, Govoni A, Caponnetto C, Passamano L, Grandis M, Trojsi F, Cerri F, Ferraro M, Bozzoni V, Caumo L, Piras R, Tanel R, Sacconi E, Meneri M, Vacchiano V, Ricci G, Soraru' G, D'Errico E, Tramacere I, Bortolani S, Pavesi G, Zanin R, Silvestrini M, Politano L, Schenone A, Previtali SC, Berardinelli A, Turri M, Verriello L, Coccia M, Mantegazza R, Liguori R, Filosto M, Marrosu G, Siciliano G, Simone IL, Mongini T, Comi G, Pegoraro E.

*Nusinersen safety and effects on motor function in adult spinal muscular atrophy type 2 and 3.*

**J Neurol Neurosurg Psychiatry.** 2020 Nov;91(11):1166-1174.

doi: 10.1136/jnnp-2020-323822. Epub 2020 Sep 11.PMID: 32917822

IF: 8.234

De Gioia R, Biella F, Citterio G, Rizzo F, Abati E, Nizzardo M, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

*Neural Stem Cell Transplantation for Neurodegenerative Diseases.*

**Int J Mol Sci.** 2020 Apr 28;21(9):3103.

doi: 10.3390/ijms21093103.PMID: 32354178

IF: 4,556

#### PROGETTI IN CORSO:

- Continua la rivalutazione retrospettiva di biopsie muscolari della nostra Banca per evidenziare miopatie indotte da mutazioni nei geni che causano miopatie miofibrillari e miopatie congenite". Il progetto ha assunto le caratteristiche di un progetto multicentrico che coinvolge alcuni dei laboratori italiani che si dedicano a tali patologie.
- La UOD Malattie Neuromuscolari, accreditata dalla UE, partecipa agli ERN europei dedicati alle "Neuromuscular Rare Diseases" e alle "Musculoskeletal Connective Diseases".
- In qualità di Rappresentante ERN della Fondazione (Dr.ssa Sciacco), è stato acquisito l'accesso, tramite la Comunità Europea, alla piattaforma CPMS (Clinical Patient Management System) per la condivisione dei casi clinici con gli altri rappresentanti ERN europei con la possibilità di organizzare delle Discussioni online.
- Prosegue la sperimentazione clinica multicentrica "Studio in doppio cieco, multinazionale, multicentrico, randomizzato in fase 3 per mettere a confronto l'efficacia e la sicurezza di infusioni bisettimanali ripetute di neoGAA (GZ402666) e alglucosidase alfa (Myozyme®/Lumizyme®) in pazienti naïve al trattamento affetti da malattia di Pompe ad esordio tardivo. Sponsor: Sanofi genzyme.
- Prosegue lo studio multicentrico. "Studio familiare ed analisi dell'esoma per identificare i fattori genetici associati alla variabilità clinica della Malattia di Pompe ad esordio tardivo (Late Onset Pompe Disease – LOPD). Principal Investigator. Prof Cesare Danesino (Istituto Mondino IRCCS, Pavia) Sponsor: Sanofi

- Prosegue la sperimentazione clinica “DSC/15/2357/53 A randomised, double blind, placebo controlled, multicentre study to evaluate the micro-macroscopic effects on muscles, the safety and tolerability, and the efficacy of givinostat in patients with Becker Muscular Dystrophy (BMD)”.
- Studio multicentrico, in collaborazione con l’istituto Carlo Besta di Milano e l’Ospedale Gaslini di Genova inerente in pazienti con quadro istologico di fibre-type disproportion, allo scopo di definirne i criteri diagnostici clinici e morfologici.
- Studio multicentrico facente capo all’Istituto Mondino di Pavia, mirato a verificare la presenza di alterazioni del metabolismo dell’RNA in miopatie con aggregati proteici (in particolare Miopatia a Corpi Inclusi) mediante analisi di eventi di splicing TDP43-dipendenti e analisi del profilo di miRNA su tessuto muscolare e sangue.

#### **FINANZIAMENTI IN CORSO:**

- Ministero della Salute Ricerca Corrente 2020
- Progetto Becker Regione “Studio multicentrico, randomizzato, in doppio-cieco, placebo-controlled per valutare gli effetti micro-macroscopici sui muscoli, la sicurezza, la tollerabilità e l’efficacia di Givinostat in soggetti affetti da Distrofia Muscolare di Becker (BMD). Sponsor: Italfarmaco.

## **UOSD MALATTIE NEURODEGENERATIVE**

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

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

<u>Direttore:</u> Prof. Elio Scarpini	Professore Associato di Neurologia
Dott.ssa Daniela Galimberti	RTDB Università di Milano
Dott.ssa Chiara Fenoglio	Tecnico Laureato Università di Milano
Dott.ssa Maria Serpente	Assegnista Università di Milano
Dott.ssa Caterina Visconte	Biologa-Borsista Fondazione IRCCS Policlinico
Dott.ssa Marina Arcaro	Biologa-Piramide Ricerca Fondazione IRCCS Policlinico
Dott.ssa Marianna D'Anca	Biologa-Borsista Fondazione IRCCS Policlinico
Dott.ssa Federica Sorrentino	Biologa-Borsista Fondazione IRCCS Policlinico
Dott.ssa Milena De Riz	Neurologa Specialista – Dirigente medico Fondazione IRCCS Policlinico
Dott.ssa Anna Pietroboni	Neurologa Specialista – Dirigente medico Fondazione IRCCS Policlinico
Dott. Andrea Arighi	Neurologo Specialista – Dirigente medico Fondazione IRCCS Policlinico
Dott. Giorgio Fumagalli	Neurologo Specialista PIVA Fondazione IRCCS Policlinico
Dott.ssa Laura Ghezzi	Assegnista Università di Milano - Neurologa Specialista – PIVA Fondazione IRCCS Policlinico
Dott.ssa Marta Scarioni	Neurologa Specialista – PIVA Fondazione IRCCS Policlinico
Dott.ssa Tiziana Carandini	Neurologo Specialista- PIVA Fondazione IRCCS Policlinico
Dott.ssa Annalisa Colombi	Medico Specializzando
Dott. Luca Sacchi	Medico Specializzando
Dott. Roberto Vimercati	Psicologo-Piramide Ricerca Fondazione IRCCS Policlinico
Dr.ssa Emanuela Rotondo	Psicologo-Piramide Ricerca Fondazione IRCCS Policlinico
Dott. Matteo Mercurio	Psicologo PIVA Fondazione IRCCS Policlinico
Dott.ssa Sara Forti	Psicologa – Borsista Fondazione IRCCS Policlinico

Dott.ssa Giulia Giardinieri

Sig.ra Daniela Da Lisca

Sig. Marco Milianti

Psicologa – Borsista Fondazione IRCCS Policlinico

Segretaria – Piramide Ricerca Fondazione IRCCS  
Policlinico

Segretario – Piramide Ricerca Fondazione IRCCS  
Policlinico

## 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 Demyelinizzanti del Sistema Nervoso Centrale

Nel corso dell'anno 2020 sono giunti all'ambulatorio per le Malattie Demyelinizzanti circa 100 nuovi pazienti.

Il numero totale di visite nel corso del 2020 è stato di più di 500 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 300 ricoveri in regime di MAC.

Il Servizio è riconosciuto tra i Centri Provinciali autorizzati dalla Regione Lombardia alla dispensazione di: beta-Interferone Ia e Ib, Copaxone (glatiramer acetato), Tysabri (Natalizumab), Gylenia (Fingolimod), Tecfidera (Dimetilfumarato), Aubagio (Teriflunomide), Lemtrada (Alemtuzumab), Ocrelizumab. In dettaglio, sono al momento registrati in File F per il trattamento circa 250 pazienti.

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

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

Sono stati effettuati 158 ricoveri in regime di MAC per accertamenti diagnostici.

Dall'ottobre 2000 il Centro è stato riconosciuto da parte della Regione Lombardia come “Unità Valutazione Alzheimer” (U.V.A) ed inserito nel Progetto CRONOS del Ministero della Sanità. Presso tale Centro afferiscono pazienti con sospetto decadimento cognitivo, inviati dal medico di base o dallo specialista, onde essere sottoposti ad un inquadramento diagnostico rivolto alla malattia di Alzheimer e demenze correlate, ai fini dell'inserimento nel progetto CRONOS che prevede l'erogazione gratuita dei nuovi farmaci anticolinesterasici. Ad oggi, risultano al momento registrati per terapia con anticolinesterasici 250 pazienti. Inoltre, alcuni pazienti sono registrati in File F per trattamento con memantina (Ebixa).

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

- esame liquor, IEF per diagnosi di sclerosi multipla: 180
- dosaggio Amiloide, Tau totale e fosforilata nel liquor per diagnosi Alzheimer: 200
- progranulina plasmatica: 70
- estrazione DNA, mutazioni MAPT, progranulina, C9ORF72, PS1 e 2, APP, PRNP: 40.

## 2. SPERIMENTAZIONI CLINICHE (multicentriche, randomizzate)

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

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

An observational, real life study to describe the effect of Lemtrada on fatigue, quality of life and other patient and caregiver reported outcomes in patients with RRSM alemll07661-REALITY

A phase 2 Multiple Dose, Multicenter, Randomized, double-blind, placebo-controlled study to evaluate the efficacy and safety of ABBV-8E12 in subjects with Early Alzheimer's Disease ABBVIE M15-566

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

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 BAN 2401-G000-301

A single arm, open label multicenter extension study to evaluate the effectiveness and safety of ocrelizumab in patients with multiple sclerosis previously enrolled in a F.Hoffman-La Roche sponsored ocrelizumab phase IIIb/IV clinical trial ROCHE MNMN39158 LIBERTO

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 AL001-3

## 3. ATTIVITÀ DI RICERCA DI BASE

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

- 1) circa 6308 campioni di DNA. Le patologie più rappresentate sono:
  - 700 pazienti con diagnosi di Malattia di Alzheimer
  - 500 con altri tipi di demenza (Degenerazione Lobare Frontotemporale, demenza a corpi di Lewy, demenza vascolare, paralisi sopranucleare progressiva, degenerazione corticobasale)
  - 750 con diagnosi di Sclerosi Multipla
- 2) circa 1000 campioni di liquido cerebrospinale, siero e plasma. Tra questi:
  - 400 pazienti con Sclerosi Multipla
  - 600 con patologie neurodegenerative (prevalentemente malattia di Alzheimer)
- 3) circa 500 cDNA ricavati da RNA estratto da cellule del sangue

3429 campioni con le caratteristiche adeguate sono stati inseriti correttamente sia sul portale Telethon sia sul portale europeo di RD connect (<https://rd-connect.eu/>)

Nel corso del 2020 l'attività del gruppo si è articolata sulle seguenti tematiche:

Isolamento delle vescicole extracellulari di origine neuronale dal plasma di pazienti con malattia di Alzheimer e Demenza Frontotemporale e studio dei microRNA in esse contenuti



Lo studio è incentrato sul ruolo delle vescicole extracellulari di derivazione neuronale nel plasma come possibili sorgenti di biomarcatori di diagnosi e/o prognosi. Le vescicole extracellulari sono prodotte da ogni tipologia cellulare e hanno acquisito nel tempo importanza come possibili meccanismi di comunicazione extracellulare nonché di spreading di patologie con alla base accumulo di proteine, proteinopatie, come accade in diverse patologie neurodegenerative. Il loro contenuto riflette lo stato fisiologico e patologico della cellula parentale permettendo così di avere una fotografia dello stato di salute della cellula. Tale aspetto, unito al fatto che possono viaggiare dal sistema nervoso centrale alla periferia e che il loro contenuto è protetto dalla degradazione cellulare, rende queste vescicole particolarmente interessanti nel campo della ricerca di marcatori delle patologie neurodegenerative quali l'AD. A questo riguardo nell'ultimo anno è stata ottimizzata la metodica per l'isolamento delle vescicole circolanti di origine neuronale, tramite citofluorimetria e analisi al microscopio elettronico. Successivamente è stata eseguita una caratterizzazione in termini di distribuzione dimensionale e concentrazione mediante due metodiche distinte, nanoparticle tracking analysis NTA, che calcola la concentrazione delle vescicole mediante analisi del moto browniano delle particelle e analisi dimensionale e di concentrazione al QUBIT. In seguito, abbiamo isolato il contenuto delle vescicole e iniziato l'analisi del profilo di espressione dei microRNA in esse contenuti. Abbiamo iniziato a testare l'espressione di 754 miRNA in una casistica ristretta e ben caratterizzata di pazienti e controlli per poi estendere l'analisi dei best hits ad una ulteriore casistica di soggetti affetti da AD e controlli. L'analisi è stata condotta sia per i miRNAs estratti dalle vescicole totali che per i miRNAs estratti dalle vescicole di derivazione neuronale allo scopo di cercare una firma molecolare specifica del contenuto in miRNA delle vescicole di derivazione neuronale. Da queste analisi è emersa una specifica signature composta da 4 miRNAs: miR-223-3p, miR-190-5p, miR-23a-3p, miR-100-3p. Tali miRNAs risultano specificatamente deregolati nelle vescicole di derivazione neuronale dei pazienti rispetto ai controlli.

#### Studio del profilo infiammatorio nel siero dei soggetti affetti da FTD e portatori di mutazione in GRN e MAPT.

Questo studio pilota 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.

Inizialmente abbiamo testato il profilo dei seguenti analiti mediante elettrochemiluminescenza usando la tecnologia MSD su piattaforma Meso –quick plex SQ 120: 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. Il pannello è stato inizialmente utilizzato su 12 soggetti sintomatici portatori di mutazioni in MAPT, 14 soggetti portatori di mutazione in GRN e 14 soggetti sani non portatori. Da una analisi preliminare emerge una differente regolazione dei livelli di alcuni parametri infiammatori nei soggetti portatori delle differenti mutazioni rispetto ai controlli non portatori suggerendo diversi meccanismi patogenetici sottesi dai diversi geni mutati.

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

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

#### PET amiloide nella Sclerosi Multipla

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

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. G. Forloni, Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri, Milano
- Prof. S. Cappa, IRCCS S. Giovanni di Dio Fatebenefratelli, Brescia
- Prof. A. Padovani, Università di Brescia
- Dott.ssa C. Verderio CNR institute of Neuroscience, Università Milano-Bicocca
- Prof. Innocenzo Rainero, Università di Torino
- Dott.ssa Roberta Ghidoni, IRCCS Istituto Centro San Giovanni di Dio Fatebenefratelli, Brescia

Tra i centri esteri:

- Dr. R.P. Lisak, Dip. di Neurologia, Detroit (USA)
- Prof. P. 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. Howard Feldman, Dept. of Neurology, University of British Columbia, Vancouver, Canada
- Dr. Anne Cross, University of Saint Louis, USA
- Prof. Jean Charles Lambert, Lille, France
- Dr. Jonathan Rohrer, UCL, London, UK
- Prof. An Goris, Leuven, Belgium
- Dr. Marta Alarcon, Genyo, Granada, Spain

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

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

#### 4. PUBBLICAZIONI SU RIVISTE INTERNAZIONALI CENSITE 2020

Leurs CE, Twaalfhoven H, Lissenberg-Witte BI, van Pesch V, Dujmovic I, Drulovic J, Castellazzi M, Bellini T, Pugliatti M, Kuhle J, Villar LM, Alvarez-Cermeño JC, Alvarez-Lafuente R, Hegen H, Deisenhammer F, Walchhofer LM, Thouvenot E, Comabella M, Montalban X, Vécsei L, Rajda C, Galimberti D, Scarpini E, Altintas A, Rejdak K, Frederiksen JL, Pihl-Jensen G, Jensen P, Khalil M, Voortman MM, Fazekas F, Saiz A, La Puma D, Vercammen M, Vanopdenbosch L, Uitdehaag B, Killestein J, Bridel C, Teunissen C.

*Kappa free light chains is a valid tool in the diagnostics of MS: A large multicenter study.*  
**Multiple Sclerosis** 2020 26(8):912-23.

IF=5,412

Pietroboni AM, Schiano di Cola F, Colombi A, Carandini T, Fenoglio C, Ghezzi L, De Riz MA, Triulzi F, Scarpini E, Padovani A, Galimberti D.

*CSF  $\beta$ -amyloid predicts early cerebellar atrophy and is associated with a poor prognosis in multiple sclerosis.*

**Mult Scler Relat Disord.** 2020; 37:101462.

IF=2,889

Rubino E, Di Stefano M, Galimberti D, Serpente M, Scarpini E, Fenoglio C, Bo M, Rainero I.

*C9ORF72 hexanucleotide repeat expansion frequency in patients with Paget's disease of bone.*

**Neurobiology of Aging** 2020;85:154.e1-154.e3.

IF=4,347

Heller C, Foiani MS, Moore K, Convery R, Bocchetta M, Neason M, Cash DM, Thomas D, Greaves CV, Woollacott IO, Shafei R, Van Swieten JC, Moreno F, Sanchez-Valle R, Borroni B, Laforce R Jr, Masellis M, Tartaglia MC, Graff C, Galimberti D, Rowe JB, Finger E, Synofzik M, Vandenberghe R, de Mendonca A, Tagliavini F, Santana I, Ducharme S, Butler CR, Gerhard A, Levin J, Danek A, Frisoni G, Sorbi S, Otto M, Heslegrave AJ, Zetterberg H, Rohrer JD;

*GENFI. Plasma glial fibrillary acidic protein is raised in progranulin-associated frontotemporal dementia.*

**J Neurol Neurosurg Psychiatry** 2020; 91(3):263-70.

IF=8,263

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

*A case of Bipolar Disorder developing into an Atypical Parkinsonism and presenting with Frontotemporal Asymmetrical Brain Degeneration. A TREDEM Registry Case Report.*

**Bipolar Disord.** 2020 22(2):201-3.

IF=5,410

Moore KM, Nicholas J, Grossman M, McMillan CT, Irwin DJ, Massimo L, Van Deerlin VM, Warren JD, Fox NC, Rossor MN, Mead S, Bocchetta M, Boeve BF, Knopman DS, Graff-Radford NR, Forsberg LK, Rademakers R, Wszolek ZK, van Swieten JC, Jiskoot LC, Meeter LH, Doppler EG, Papma JM, Snowden JS, Saxon J, Jones M, Pickering-Brown S, Le Ber I, Camuzat A, Brice A, Caroppo P, Ghidoni R, Pievani M, Benussi L, Binetti G, Dickerson BC, Lucente D, Krivensky S, Graff C, Öijersted L, Fallström M, Thonberg H, Ghoshal N, Morris JC, Borroni B, Benussi A, Padovani A, Galimberti D, Scarpini E, Fumagalli GG, Mackenzie IR, Hsiung GR, Sengdy P, Boxer AL, Rosen H, Taylor JB, Synofzik M, Wilke C, Sulzer P, Hodges JR, Halliday G, Kwok J, Sanchez-Valle R, Lladó A, Borrego-Ecija S, Santana I, Almeida MR, Tábuas-Pereira M, Moreno F, Barandiaran M, Indakoetxea B, Levin J, Danek A, Rowe JB, Cope TE, Otto M, Anderl-Straub S, de Mendonça A, Maruta C, Masellis M, Black SE, Couratier P, Lautrette G, Huey ED, Sorbi S, Nacmias B, Laforce R Jr, Tremblay ML, Vandenberghe R, Damme PV, Rogalski EJ, Weintraub S, Gerhard A, Onyike CU, Ducharme S, Papageorgiou SG, Lyn AS, Brodtmann A, Finger E, Guerreiro R, Bras J, Rohrer JD;

*FTD Prevention Initiative. Age at symptom onset and death and disease duration in genetic frontotemporal dementia: an international retrospective cohort study.*

**Lancet Neurol** 2020;19(2):145-56.

IF=30,039

Rosas I, Martínez C, Clarimón J, Lleó A, Illán-Gala I, Dols-Icardo O, Borroni B, Almeida MR, van der Zee J, Van Broeckhoven C, Bruni AC, Anfossi M, Bernardi L, Maletta R, Serpente M, Galimberti D, Scarpini E, Rossi G, Caroppo P, Benussi L, Ghidoni R, Binetti G, Nacmias B, Sorbi S, Piaceri I, Bagnoli S, Antonell A, Sánchez-Valle R, De la Casa-Fages B, Grandas F, Diez-Fairen M, Pastor P, Ferrari R, Álvarez V, Menéndez-González M.

*Role for ATXN1, ATXN2, and HTT intermediate repeats in frontotemporal dementia and Alzheimer's disease.*

**Neurobiol Aging** 2020;87:139.e1-139.e7.

IF=4,347

Gallucci M, Pallucca C, Di Battista ME, Bergamelli C, Fiore V, Boccaletto F, Fiorini M, Perra D, Zanusso G, Fenoglio C, Serpente M, Galimberti D, Bonanni L.

*Anti-Cholinergic Derangement of Cortical Metabolism on 18F-FDG PET in a Patient with Frontotemporal Lobar Degeneration Dementia: A Case of the TREDEM Registry.*

**J Alzheimers Dis.** 2020;74(4):1107-17

IF=3,909

Ducharme S, Dols A, Laforce R, Devenney E, Kumfor F, van den Stock J, Dallaire-Thérone C, Seelaar H, Gossink F, Vijverberg E, Huey E, Vandenbulcke M, Masellis M, Trieu C, Onyike C, Caramelli P, de Souza LC, Santillo A, Waldö ML, Landin-Romero R, Piguet O, Kelso W, Eratne D, Velakoulis D, Ikeda M, Perry D, Pressman P, Boeve B, Vandenbergh R, Mendez M, Azuar C, Levy R, Le Ber I, Baez S, Lerner A, Ellayosyula R, Pasquier F, Galimberti D, Scarpini E, van Swieten J, Hornberger M, Rosen H, Hodges J, Diehl-Schmid J, Pijnenburg Y.

*Recommendations to distinguish behavioural variant frontotemporal dementia from psychiatric disorders.*

**Brain** 2020 143(6):1632-50.

IF=11,337

Carlini V, Verduci I, Cianci F, Cannavale G, Fenoglio C, Galimberti D, Mazzanti M. CLIC1

*Protein Accumulates in Circulating Monocyte Membrane during Neurodegeneration.*

**Int J Mol Sci** 2020; 21(4):1484 IF=4,556

Costa B, Manzoni C, Bernal-Quiros M, Kia DA, Aguilar M, Alvarez I, Alvarez V, Andreassen O, Anfossi M, Bagnoli S, Benussi L, Bernardi L, Binetti G, Blackburn D, Boada M, Borroni B, Bowns L, Bråthen G, Bruni AC, Chiang HH, Clarimon J, Colville S, Conidi ME, Cope TE, Cruchaga C, Cupidi C, Di Battista ME, Diehl-Schmid J, Diez-Fairen M, Dols-Icardo O, Durante E, Flisar D, Frangipane F, Galimberti D, Gallo M, Gallucci M, Ghidoni R, Graff C, Grafman JH, Grossman M, Hardy J, Hernández I, Holloway GJ, Huey ED, Illán-Gala I, Karydas A, Khoshnood B, Kramberger MG, Kristiansen M, Lewis PA, Lleó A, Madhan GK, Maletta R, Maver A, Menendez-Gonzalez M, Milan G, Miller B, Mol MO, Momeni P, Moreno-Grau S, Morris CM, Nacmias B, Nilsson C, Novelli V, Öijersted L, Padovani A, Pal S, Panchbhaya Y, Pastor P, Peterlin B, Piaceri I, Pickering-Brown S, Pijnenburg YA, Puca AA, Rainero I, Rendina A, Richardson AM, Rogaeva E, Rogelj B, Rollinson S, Rossi G, Rossmeier C, Rowe JB, Rubino E, Ruiz A, Sanchez-Valle R, Sando SB, Santillo AF, Saxon J, Scarpini E, Serpente M, Smirne N, Sorbi S, Suh E, Tagliavini F, Thompson JC, Trojanowski JQ, Van Deerlin VM, Van der Zee J, Van Broeckhoven C, van Rooij J, Van Swieten JC, Veronesi A, Vitale E, Waldö ML, Woodward C, Yokoyama J, Escott-Price V, Polke JM, Ferrari R;

*International FTD-Genetics Consortium (IFGC).C9orf72, AAO and ancestry help discriminating behavioural from language variants in FTL D cohorts.*

**Neurology** 2020; 95(24):e3288-e3302

IF=8,770

Pietroboni AM, Colombi A, Carandini T, Scarpini E, Galimberti D, Bozzali M. The Role of Amyloid- $\beta$  in White Matter Damage:

Possible Common Pathogenetic Mechanisms in Neurodegenerative and Demyelinating Diseases. **J Alzheimers Dis.** 2020; 78(1):13-22.

IF=3,909

Scarioni M, Arighi A, Fenoglio C, Sorrentino F, Serpente M, Rotondo E, Mercurio M, Marotta G, Dijkstra AA, Pijnenburg YAL, Scarpini E, Galimberti D.

Late-onset presentation and phenotypic heterogeneity of the rare R377W PSEN1 mutation.

**Eur J Neurol.** 2020; 27(12):2630-4.

IF=4,516

Tavares TP, Mitchell DGV, Coleman KK, Coleman BL, Shoesmith CL, Butler CR, Santana I, Danek A, Gerhard A, de Mendonca A, Borroni B, Tartaglia MC, Graff C, Galimberti D, Tagliavini F, Moreno F, Frisoni G, Rowe JB, Levin J, Van Swieten JC, Otto M, Synofzik M, Sanchez-Valle R, Vandenberghe R, Laforce RJ, Ghidoni R, Sorbi S, Ducharme S, Masellis M, Rohrer J, Finger E.

*Early symptoms in symptomatic and preclinical genetic frontotemporal lobar degeneration.*

**J Neurol Neurosurg Psychiatry.** 2020;91(9):975-84. IF=8,263

Convery RS, Bocchetta M, Greaves CV, Moore KM, Cash DM, Van Swieten J, Moreno F, Sánchez-Valle R, Borroni B, Laforce R Jr, Masellis M, Tartaglia MC, Graff C, Galimberti D, Rowe JB, Finger E, Synofzik M, Vandenberghe R, de Mendonca A, Tagliavini F, Santana I, Ducharme S, Butler C, Gerhard A, Levin J, Danek A, Otto M, Warren JD, Rohrer JD; Genetic FTD Initiative (GENFI).

*Abnormal pain perception is associated with thalamo-cortico-striatal atrophy in C9orf72 expansion carriers in the GENFI cohort.*

**J Neurol Neurosurg Psychiatry** 2020; 91(12):1325-8. IF=8,263

Gao Y, Wang T, Yu X; International FTD-Genomics Consortium (IFGC), Zhao H, Zeng P. *Mendelian randomization implies no direct causal association between leukocyte telomere length and amyotrophic lateral sclerosis.*

**Sci Rep.** 2020;10(1):12184. IF=5,793

Serpente M, Fenoglio C, D'Anca M, Arcaro M, Sorrentino F, Visconte C, Arighi A, Fumagalli GG, Porretti L, Cattaneo A, Ciani M, Zanardini R, Benussi L, Ghidoni R, Scarpini E, Galimberti D.

*MiRNA Profiling in Plasma Neural-Derived Small Extracellular Vesicles from Patients with Alzheimer's Disease.*

**Cells** 2020;9(6):1443. IF=4,366

Saresella M, Marventano I, Piancone F, La Rosa F, Galimberti D, Fenoglio C, Scarpini E, Clerici M.

IL-33 and its decoy sST2 in patients with Alzheimer's disease and mild cognitive impairment.

**J Neuroinflammation.** 2020;17(1):174. IF=5,793

Carandini T, Pietroboni AM, Sacchi L, De Riz MA, Pozzato M, Arighi A, Fumagalli GG, Martinelli Boneschi F, Galimberti D, Scarpini E. Alemtuzumab in multiple sclerosis during the COVID-19 pandemic:

*A mild uncomplicated infection despite intense immunosuppression.*

**Multiple Sclerosis** 2020;26(10):1268-9

IF=5,412

Pietroboni AM, Carandini T, Dell'Arti L, Bovis F, Colombi A, De Riz MA, Casazza E, Scola E, Fenoglio C, Arighi A, Fumagalli GG, Triulzi F, Galimberti D, Viola F, Scarpini E.

*Evidence of retinal anterograde neurodegeneration in the very early stages of multiple sclerosis: a longitudinal OCT study.*

**Neurological Sciences** 2020; 41(11):3175-83. IF=2,415

Le Blanc G, Jetté Pomerleau V, McCarthy J, Borroni B, van Swieten J, Galimberti D, Sanchez-Valle R, LaForce R Jr, Moreno F, Synofzik M, Graff C, Masellis M, Tartaglia MC, Rowe JB, Vandenberghe R, Finger E, Tagliavini F, de Mendonça A, Santana I, Butler C, Gerhard A, Danek A, Levin J, Otto M, Frisoni G, Sorbi S, Rohrer JD, Ducharme S;

*BGenetic Frontotemporal Dementia Initiative (GENFI). Faster Cortical Thinning and Surface Area Loss in Presymptomatic and Symptomatic C9orf72 Repeat Expansion Adult Carriers.*

**Annals of Neurology** 2020;88(1):113-22 IF=9,037

Scarioni M, Gami-Patel P, Timar Y, Seelaar H, van Swieten JC, Rozemuller AJM, Dols A, Scarpini E, Galimberti D; Netherlands Brain Bank, Hoozemans JJM, Pijnenburg YAL, Dijkstra AA.

*Frontotemporal Dementia: Correlations Between Psychiatric Symptoms and Pathology.*

**Annals of Neurology** 2020;87(6):950-61 IF=9,037

van der Ende EL, Xiao M, Xu D, Poos JM, Panman JL, Jiskoot LC, Meeter LH, Dopfer EG, Papma JM, Heller C, Convery R, Moore K, Bocchetta M, Neason M, Peakman G, Cash DM, Teunissen CE, Graff C, Synofzik M, Moreno F, Finger E, Sánchez-Valle R, Vandenberghe R, Laforce R Jr, Masellis M, Tartaglia MC, Rowe JB, Butler CR, Ducharme S, Gerhard A, Danek A, Levin J, Pijnenburg YA, Otto M, Borroni B, Tagliavini F, de Mendonca A, Santana I, Galimberti D, Seelaar H, Rohrer JD, Worley PF, van Swieten JC; *Genetic Frontotemporal Dementia Initiative (GENFI). Neuronal pentraxin 2: a synapse-derived CSF biomarker in genetic frontotemporal dementia.*

**J Neurol Neurosurg Psychiatry.** 2020;91(6):612-621. IF=8,263

Demartini B, Invernizzi RW, Campiglio L, Bocci T, D'Arrigo A, Arighi A, Sciacca F, Galimberti D, Scarpini E, Gambini O, Priori A.

*Cerebrospinal fluid glutamate changes in functional movement disorders.*

**NPJ Parkinsons Dis.** 2020;6(1):37. IF=6,750

Bartesaghi F, Rosci CE, Rassiga C, Barbieri V, Gambini O, Floro S, D'Arrigo AM, Del Sole A, Scarpini EA, Galimberti D, Priori A.

*Psychiatric Disorders in Alzheimer Disease With the Presenilin-1 L226F Mutation. Cogn Behav*

**Neurol.** 2020;33(4):278-82. IF=0,750

Russell LL, Greaves CV, Bocchetta M, Nicholas J, Convery RS, Moore K, Cash DM, van Swieten J, Jiskoot L, Moreno F, Sanchez-Valle R, Borroni B, Laforce R Jr, Masellis M, Tartaglia MC, Graff C, Rotondo E, Galimberti D, Rowe JB, Finger E, Synofzik M,

Vandenberghe R, de Mendonça A, Tagliavini F, Santana I, Ducharme S, Butler C, Gerhard A, Levin J, Danek A, Otto M, Warren JD, Rohrer JD; Genetic FTD Initiative, GENFI. *Social cognition impairment in genetic frontotemporal dementia within the GENFI cohort.* **Cortex** 2020;133: 384-98. IF=4,009

Fumagalli GG, Basilico P, Arighi A, Mercurio M, Scarioni M, Carandini T, Colombi A, Pietroboni AM, Sacchi L, Conte G, Scola E, Triulzi F, Scarpini E, Galimberti D. *Parieto-occipital sulcus widening differentiates posterior cortical atrophy from typical Alzheimer disease.* **Neuroimage Clin.** 2020 28:102453. IF=4,350

Toboso I, Tejeda-Velarde A, Alvarez-Lafuente R, Arroyo R, Hegen H, Deisenhammer F, Sainz de la Maza S, Alvarez-Cermeño JC, Izquierdo G, Paramo D, Oliva P, Casanova B, Agüera-Morales E, Franciotta D, Gastaldi M, Fernández O, Urbaneja P, Garcia-Dominguez JM, Romero F, Laroni A, Uccelli A, Perez-Sempere A, Saiz A, Blanco Y, Galimberti D, Scarpini E, Espejo C, Montalban X, Rasche L, Paul F, González I, Álvarez E, Ramo C, Caminero AB, Aladro Y, Calles C, Eguía P, Belenguer-Benavides A, Ramió-Torrentà L, Quintana E, Martínez-Rodríguez JE, Oterino A, López de Silanes C, Casanova LI, Landete L, Frederiksen J, Bsteh G, Mulero P, Comabella M, Hernández MA, Espiño M, Prieto JM, Pérez D, Otano M, Padilla F, García-Merino JA, Navarro L, Muriel A, Frossard LC, Villar LM. *New Algorithms Improving PML Risk Stratification in MS Patients Treated With Natalizumab.* **Front Neurol.** 2020;11:579438. IF=2,889

Morandi A, Zambon A, Di Santo SG, Mazzone A, Cherubini A, Mossello E, Bo M, Marengoni A, Bellelli G; Italian Study Group on Delirium (ISGoD, including E. Scarpini). *Understanding Factors Associated With Psychomotor Subtypes of Delirium in Older Inpatients With Dementia.* **J Am Med Dir Assoc.** 2020;21(4):486-492.e7. IF=4,367

Butzkueven H, Kappos L, Wiendl H, Trojano M, Spelman T, Chang I, Kasliwal R, Jaitly S, Campbell N, Ho PR, Licata S; Tysabri Observational Program (TOP) Investigators (including E. Scarpini). *Long-term safety and effectiveness of natalizumab treatment in clinical practice: 10 years of real-world data from the Tysabri Observational Program (TOP).* **J Neurol Neurosurg Psychiatry.** 2020;91(6):660-8. IF=8,263

Pietroboni AM, Colombi A, Carandini T, Contarino VE, Ghezzi L, Fumagalli GG, Arighi A, Fenoglio C, De Riz MA, Triulzi F, Scarpini E, Galimberti D. *Low CSF  $\beta$ -amyloid levels predict early regional grey matter atrophy in multiple sclerosis.* **Mult Scler Relat Disord** 2020;39:101899 IF=2,889

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

- Dott. D. Galimberti - Senior Editor della rivista Journal of Alzheimer's disease
- Dott. D. Galimberti - Editor della sezione "Reviews" della rivista Journal of Alzheimer's disease
- Dott. D. Galimberti – Coordinating Editor della rivista "Molecular Neurobiology"

## **6. MEMBERSHIP SOCIETÀ SCIENTIFICHE E ASSEGNAZIONE GRANTS**

- Dott.ssa D. Galimberti – Secretary of the Dementia Panel della European Academy of Neurology (EAN)
- Prof. E. Scarpini – socio fondatore e membro del Consiglio Direttivo dell’Associazione per la ricerca sulle demenze della Società Italiana di Neurologia (SINDEM)
- Dott.ssa D. Galimberti - revisore dei conti della SINDEM
- Dott. A. Arighi - membro del consiglio direttivo della SINDEM
- Dott.ssa D. Galimberti – membro del consiglio direttivo della Associazione Italiana Neuropatologia e Neurobiologia Clinica
- Dott. ssa D. Galimberti membro della commissione “Reserche Translationnelle” - Agence Nationale de la Recherche (Francia)
- Dott. ssa D. Galimberti - membro della commissione per l’assegnazione grants della Slovenian Research Agency (Slovenia)
- Dott. ssa D. Galimberti - membro della commissione per l’assegnazione grants della Fundação para a Ciência e a Tecnologia (Portogallo)
- Dott. ssa D. Galimberti - membro della commissione per l’assegnazione grants della Research Foundation Flanders – FWO (Belgio)
- Dott. ssa D. Galimberti - membro della commissione per l’assegnazione grants dello Swedish Research Council (Svezia)

## **7. FINANZIAMENTI**

- Fondazione Gigi e Pupa Ferrari Onlus 15.000 nel 2018 - UniMi - finanziamento totale E 45.000 (2018-2020)
- Fondazione Monzino per progetto collaborativo con M. Negri sulla malattia di Alzheimer a Associazione Centro Dino Ferrari E 200.000
- 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 (2019-2023)
- Identification of the Molecular Mechanisms of non-response to Treatments, Relapses and Remission in Autoimmune, Inflammatory, and Allergic Conditions” (Acronym: 3TR) FINANZIATO NELL’AMBITO DEL PROGRAMMA HORIZON2020, CALL “H2020-JTI-IMI2-2018-14-two-stage – partner (2019-2026)
- JPND call 2019 “Multinational research projects on Personalised Medicine for Neurodegenerative Diseases” Project DIPPA-FTD (DIagnostic and Prognostic Precision medicine Algorithm for bvFTD) – partner – MIUR – E 147.087,50 (2020-2023)  
Erogazione liberale Sanofi UniMI x assegno ricerca E 60.000  
Ricerca Corrente IRCCS Policlinico E 102.088



## **CENTRO PARKINSON ED ALTRI DISTURBI DEL MOVIMENTO**

**Responsabile:**

**Dr. Alessio Di Fonzo**

Medici:

Dr.ssa Giulia Franco

Dr.ssa Ilaria Trezzi

Dott. Emanuele Frattini

Dott. Edoardo Monfrini

Dr.ssa Federica Arienti

Dr.ssa Giulia Lazzeri

Dr.ssa Maria Vizziello

Dr.ssa Arianna Manini

Dott. Giacomo Bitetto

Dott. Mattia Tosi

Dott. Marco Percetti

Nel corso dell'anno 2020 le attività del gruppo di ricerca dedicato alla malattia di Parkinson ed altri disturbi del movimento si sono focalizzate sulle indagini molecolari e biochimiche e sullo sviluppo di modelli cellulari mirati ad approfondire l'eziopatogenesi della malattia di Parkinson e di altri disordini del movimento.

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

Oltre all'attività inerente alla ricerca clinica, nel 2020 è proseguita la sperimentazione terapeutica (studio di fase II) con un anticorpo monoclonale diretto contro la proteina alpha-sinucleina, il cui accumulo risulta nella neurodegenerazione alla base della patologia. Lo studio si chiuderà nel 2021. È in corso una sperimentazione con un farmaco inibitore del reuptake della noradrenalina per il controllo dei sintomi correlati all'ipotensione ortostatica neurogena nella Malattia di Parkinson, nell'Atrofia Multisistemica e nella PAF/Pure Autonomic Failure. È in corso uno studio di fase III per valutare l'efficacia di un farmaco inibitore della mieloperossidasi nei pazienti affetti da Atrofia Multisistemica di tipo P e C.

Sono in corso tre studi osservazionali multicentrici volti alla creazione di registri nazionali e internazionali. In particolare il primo studio è promosso dal Centro per le Malattie Neurodegenerative dell'A.O.U. Ruggi d'Aragona di Salerno e si propone di creare un registro nazionale sui disordini del movimento rari (Paralisi Sopranucleare Progressiva e Atrofia Multisistemica) e tremori. Mentre il secondo a carattere internazionale, promosso dalla National Parkinson Foundation (USA) e dal titolo "Parkinson's Outcomes Project", ha come obiettivo primario quello di creare un registro internazionale di pazienti con malattia di Parkinson. Infine, è in corso uno studio osservazionale per valutare l'impatto di un farmaco inibitore delle monoamino ossidasi sulla qualità di vita e sulla sintomatologia dolorosa nei pazienti affetti da Malattia di Parkinson.

Sono proseguiti gli studi sugli aspetti genetici della malattia di Parkinson, condotti con la collaborazione d'istituti a carattere nazionale e internazionale, con lo scopo di individuare nuove mutazioni genetiche sia nelle forme giovanili sia in quelle adulte della malattia, e di consentire una migliore caratterizzazione dei fenotipi associati a determinati fattori di rischio genetico. Sono inoltre stati descritti fenotipi clinici correlati a mutazioni genetiche rare caratterizzate da disordini del movimento, tra cui atassie, distonie, neurodegenerazioni con accumulo di ferro e leucoencefalopatie. Il lavoro condotto ha portato a numerose pubblicazioni scientifiche (Genes, Neurology Genetics, Orphanet Journal of Rare Diseases, Parkinsonism and Related Disorders, American Journal of medical genetics, BMC Neurology, European journal of neurology).

Parallelamente sono stati portati avanti diversi progetti finalizzati all'identificazione di deficit enzimatici, in particolare dell'enzima lisosomiale Glucocerebrosidasi, sia nei linfociti che nei fibroblasti dei pazienti. E' stato ulteriormente approfondito lo studio del gene GBA e della correlazione tra malattia di Parkinson e malattia di Gaucher (GD), con particolare riguardo alle caratteristiche cliniche ed epidemiologiche, alla gestione multidisciplinare del paziente e al counseling dei familiari di pazienti affetti da GD, allo sviluppo di test di screening rapidi per le varianti di GBA.

Sono proseguiti gli studi sui meccanismi di aggregazione proteica e neurodegenerazione, in particolare relativi ai difetti di trasporto nucleo-citoplasmatico e alla disfunzione mitocondriale.

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

### **1) Screening genetici e analisi funzionale nella malattia di Parkinson**

Le varianti eterozigoti del gene GBA rappresentano il fattore di rischio genetico più frequente della malattia di Parkinson. Mutazioni bialleliche di GBA causano invece la malattia di Gaucher.

Abbiamo partecipato ad uno studio italiano multicentrico di screening genetico delle mutazioni GBA nei pazienti affetti da malattia di Parkinson, identificando mutazioni di questo gene in circa il 15% della popolazione analizzata. Sono stati approfonditi alcuni aspetti poco chiari della malattia di Parkinson associata a mutazioni di GBA, quali l'incidenza, la penetranza e la prevalenza della demenza in questa forma. Inoltre, abbiamo proposto una metodologia di screening genetico rapido e a basso costo delle mutazioni più frequenti di GBA, facilitandone così la diagnosi genetica.

Abbiamo contribuito alla produzione di un "position paper", a cui hanno contribuito i principali esperti italiani di malattia di Gaucher, in merito al counseling e gestione nei pazienti affetti da malattia di Gaucher, che presentano un rischio aumentato di malattia di Parkinson, rispetto alla popolazione generale.

Petrucchi S, Ginevrino M, Trezzi I, Monfrini E, Ricciardi L, Albanese A, Avenali M, Barone P, Bentivoglio AR, Bonifati V, Bove F, Bonanni L, Brusa L, Cereda C, Cossu G, Criscuolo C, Dati G, De Rosa A, Eleopra R, Fabbrini G, Fadda L, Garbellini M, Minafra B, Onofri M, Pacchetti C, Palmieri I, Pellicchia MT, Petracca M, Picillo M, Pisani A, Vallelunga A, Zangaglia R, Di Fonzo A, Morgante F, Valente EM; ITA-GENE-PD Study Group.

*GBA-Related Parkinson's Disease: Dissection of Genotype-Phenotype Correlates in a Large Italian Cohort.*

**Mov Disord.** 2020 Nov;35(11):2106-2111.

Di Rocco M, Di Fonzo A, Barbato A, Cappellini MD, Carubbi F, Giona F, Giuffrida G, Linari S, Pession A, Quarta A, Scarpa M, Spada M, Strisciuglio P, Andria G.

*Parkinson's disease in Gaucher disease patients: what's changing in the counseling and management of patients and their relatives?*

**Orphanet J Rare Dis.** 2020 Sep 23;15(1):262.

Straniero L, Rimoldi V, Melistaccio G, Di Fonzo A, Pezzoli G, Duga S, Asselta R.

*A rapid and low-cost test for screening the most common Parkinson's disease-related GBA variants.*

**Parkinsonism Relat Disord.** 2020 Nov;80:138-141.

Straniero L, Asselta R, Bonvegna S, Rimoldi V, Melistaccio G, Soldà G, Aureli M, Della Porta M, Lucca U, Di Fonzo A, Zecchinelli A, Pezzoli G, Cilia R, Duga S.

*The SPID-GBA study: Sex distribution, Penetrance, Incidence, and Dementia in GBA-PD.*

**Neurol Genet.** 2020 Oct 20;6(6):e523.

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

Studi di analisi di linkage e di analisi mutazionali di altri geni sono stati eseguiti e hanno portato a importanti risultati volti ad identificare nuovi geni coinvolti nella malattia di Parkinson.

Nell'ambito delle distonie abbiamo descritto il caso di un paziente con mutazione di GNAL e caratteristiche atipiche rispetto agli altri casi riportati in letteratura (esordio in età infantile e coinvolgimento cerebellare). Abbiamo identificato mutazioni bialleliche del gene mitocondriale *SLC25A46*, associato ad atrofia ottica e neuropatia periferica, come possibile causa di Malattia di Parkinson associata ad atrofia ottica. Abbiamo descritto mutazioni di un altro gene mitocondriale, *ECHS1*, in una famiglia con fenotipo caratterizzato da una sindrome distonico-atassica e nistagmo torsionale. Abbiamo espanso il fenotipo clinico associato a mutazioni del gene *EARS2*, classicamente associato a leucoencefalopatia ad esordio in età infantile, per il riscontro di mutazioni bialleliche in un paziente con una sindrome parkinsoniana ad esordio in età adulta. Un'altra rara forma di leucoencefalopatia, caratterizzata da calcificazioni e cisti cerebrali e associata a mutazioni del gene *SNORD118*, è stata descritta dal nostro gruppo in associazione a sintomi sistemici atipici. Abbiamo descritto due casi di una rara forma di neurodegenerazione con accumulo di ferro, BPAN, associata a mutazioni del gene *WDR45*. Infine, nell'ambito delle atassie, abbiamo identificato mutazioni del gene *TGM6* associato a forme rare di atassia autosomica dominante (SCA35) ad esordio in età adulta.

Erro R, Di Fonzo A, Percetti M, Monfrini E, Scannapieco S, Picillo M, Barone P.  
*Childhood-onset dystonia with cerebellar signs: expanding the spectrum of GNAL mutations.*  
**Eur J Neurol.** 2020 Nov;27(11):e66-e67.

Bitetto G, Malaguti MC, Ceravolo R, Monfrini E, Straniero L, Morini A, Di Giacompo R, Frosini D, Palermo G, Biella F, Ronchi D, Duga S, Taroni F, Corti S, Comi GP, Bresolin N, Giometto B, Di Fonzo A.  
*SLC25A46 mutations in patients with Parkinson's Disease and optic atrophy.*  
**Parkinsonism Relat Disord.** 2020 May;74:1-5.

Ronchi D, Monfrini E, Bonato S, Mancinelli V, Cinnante C, Salani S, Bordoni A, Ciscato P, Fortunato F, Villa M, Di Fonzo A, Corti S, Bresolin N, Comi GP.  
*Dystonia-ataxia syndrome with permanent torsional nystagmus caused by ECHS1 deficiency.*  
**Ann Clin Transl Neurol.** 2020 May;7(5):839-845.

Bonomo G, Monfrini E, Borellini L, Bonomo R, Arienti F, Saetti MC, Di Fonzo A, Locatelli M.  
*Systemic involvement in adult-onset leukoencephalopathy with intracranial calcifications and cysts (Labrune syndrome) with a novel mutation of the SNORD118 gene.*  
**Eur J Neurol.** 2020 Nov;27(11):2329-2332.

Monfrini E, Ronchi D, Franco G, Garbellini M, Straniero L, Scola E, Arienti F, Duga S, Comi GP, Bresolin N, Di Fonzo A.  
*Late-onset leukoencephalopathy in a patient with recessive EARS2 mutations.*  
**Neurol Genet.** 2020 Jul 13;6(5):e488.

Crow YJ, Marshall H, Rice GI, Seabra L, Jenkinson EM, Baranano K, Battini R, Berger A, Blair E, Blauwblomme T, Bolduc F, Boddaert N, Buckard J, Burnett H, Calvert S, Caumes R, Ng AC, Chiang D, Clifford DB, Cordelli DM, de Burca A, Demic N, Desguerre I, De Waele L, Di Fonzo A, Dunham SR, Dyack S, Elmslie F, Ferrand M, Fisher G, Karimiani EG, Ghommid J, Gibbon F, Goel H, Hilmarson HT, Hughes I, Jacob A, Jones EA, Kumar R, Leventer RJ, MacDonald S, Maroofian R, Mehta SG, Metz I, Monfrini E, Neumann D, Noetzel M, O'Driscoll M, Öunap K, Panzer A, Parikh S, Prabhakar P, Ramond F, Sandford R,

Saneto R, Soh C, Stutterd CA, Subramanian GM, Talbot K, Thomas RH, Toro C, Touraine R, Wakeling E, Wassmer E, Whitney A, Livingston JH, O'Keefe RT, Badrock AP.  
*Leukoencephalopathy with calcifications and cysts: Genetic and phenotypic spectrum.*  
**Am J Med Genet A.** 2021 Jan;185(1):15-25.

Manini A, Bocci T, Migazzi A, Monfrini E, Ronchi D, Franco G, De Rosa A, Sartucci F, Priori A, Corti S, Comi GP, Bresolin N, Basso M, Di Fonzo A.  
*A case report of late-onset cerebellar ataxia associated with a rare p.R342W TGM6 (SCA35) mutation.*  
**BMC Neurol.** 2020 Nov 7;20(1):408.

Monfrini E, Tocco P, Bonato S, Tosi M, Melzi V, Frattini E, Franco G, Corti S, Comi GP, Bresolin N, Di Fonzo A.  
*Expanding the genotypic and phenotypic spectrum of Beta-propeller protein-associated neurodegeneration.*  
**Eur J Neurol.** 2020 Dec 12.

### **3) Generazione e caratterizzazione di neuroni dopaminergici e organoidi mesencefalici da cellule staminali pluripotenti indotte da pazienti affetti da forme familiari di Malattia di Parkinson e di Neurodegenerazione con accumulo cerebrale di ferro.**

Per analizzare il processo patogenetico alla base della mutazione del gene Park2, causativa di una forma giovanile di Malattia di Parkinson, sono stati sviluppati modelli cellulari bi e tridimensionali partendo da fibroblasti e linfociti di pazienti affetti da tale patologia. I fibroblasti e i linfociti sono stati riprogrammati in cellule staminali utilizzando un vettore virale (Sendai virus). Le cellule staminali sono quindi state differenziate in neuroni dopaminergici e astrociti. Abbiamo inoltre generato un modello innovativo, l'organoide con differenziamento mesencefalico, per meglio studiare la patogenesi della malattia in un tessuto simile a quello dei pazienti. Le analisi finora eseguite hanno dimostrato una minor sopravvivenza neurale negli affetti rispetto ai controlli. Abbiamo analizzato anche il livello di espressione del canale del potassio KAR che nei pazienti con mutazione Park2 sembra essere up-regolato e causare una tossicità glutammatergica. Nei modelli finora generati non abbiamo trovato un'alterazione quantitativa di tale recettore. Le analisi sono ancora in corso.

E' stato inoltre avviato un progetto relativo allo studio dell'eziopatogenesi di una forma di neurodegenerazione con accumulo di ferro (NBIA): la BPAN (Neurodegenerazione associata a proteina beta propeller). Sono stati generati e differenziati due linee di organoidi di pazienti affetti da tale patologia e due controlli. Sono stati individuati due composti farmacologici in grado di indurre l'autofagia. Il prossimo step è quello di testare queste molecole sugli organoidi e verificare se si realizza un "rescue" fenotipico.

Infine è stato concluso un grosso studio relativo all'analisi dei meccanismi patogenetici di GBA nella Malattia di Parkinson. Anche questo progetto è stato sviluppato, utilizzando come modello l'organoide.

#### **Lavori scientifici**

Monfrini E, Tocco P, Bonato S, Tosi M, Melzi V, Frattini E, Franco G, Corti S, Comi GP, Bresolin N, Di Fonzo A.  
*Expanding the genotypic and phenotypic spectrum of Beta-propeller protein-associated neurodegeneration.*  
**Eur J Neurol.** 2020 Dec 12. doi: 10.1111/ene.14679.

Straniero L, Asselta R, Bonvegna S, Rimoldi V, Melistaccio G, Soldà G, Aureli M, Della Porta M, Lucca U, Di Fonzo A, Zecchinelli A, Pezzoli G, Cilia R, Duga S.

*The SPID-GBA study: Sex distribution, Penetrance, Incidence, and Dementia in GBA-PD.*  
**Neurol Genet.** 2020 Oct 20;6(6):e523. doi: 10.1212/NXG.0000000000000523.

Regoni M, Cattaneo S, Mercatelli D, Novello S, Passoni A, Bagnati R, Davoli E, Croci L, Consalez GG, Albanese F, Zanetti L, Passafaro M, Serratto GM, Di Fonzo A, Valtorta F, Ciammola A, Taverna S, Morari M, Sassone J.

*Pharmacological antagonism of kainate receptor rescues dysfunction and loss of dopamine neurons in a mouse model of human parkin-induced toxicity.*

**Cell Death Dis.** 2020 Nov 10;11(11):963. doi: 10.1038/s41419-020-03172-8.

Manini A, Bocci T, Migazzi A, Monfrini E, Ronchi D, Franco G, De Rosa A, Sartucci F, Priori A, Corti S, Comi GP, Bresolin N, Basso M, Di Fonzo A.

*A case report of late-onset cerebellar ataxia associated with a rare p.R342W TGM6 (SCA35) mutation.*

**BMC Neurol.** 2020 Nov 7;20(1):408. doi: 10.1186/s12883-020-01964-1.

Crow YJ, Marshall H, Rice GI, Seabra L, Jenkinson EM, Baranano K, Battini R, Berger A, Blair E, Blauwblomme T, Bolduc F, Boddaert N, Buckard J, Burnett H, Calvert S, Caumes R, Ng AC, Chiang D, Clifford DB, Cordelli DM, de Burca A, Demic N, Desguerre I, De Waele L, Di Fonzo A, Dunham SR, Dyack S, Elmslie F, Ferrand M, Fisher G, Karimiani EG, Ghommid J, Gibbon F, Goel H, Hilmarsen HT, Hughes I, Jacob A, Jones EA, Kumar R, Leventer RJ, MacDonald S, Maroofian R, Mehta SG, Metz I, Monfrini E, Neumann D, Noetzel M, O'Driscoll M, Öunap K, Panzer A, Parikh S, Prabhakar P, Ramond F, Sandford R, Saneto R, Soh C, Stutterd CA, Subramanian GM, Talbot K, Thomas RH, Toro C, Touraine R, Wakeling E, Wassmer E, Whitney A, Livingston JH, O'Keefe RT, Badrock AP.

*Leukoencephalopathy with calcifications and cysts: Genetic and phenotypic spectrum.*

**Am J Med Genet A.** 2021 Jan;185(1):15-25. doi: 10.1002/ajmg.a.61907.

Straniero L, Rimoldi V, Melistaccio G, Di Fonzo A, Pezzoli G, Duga S, Asselta R.

*A rapid and low-cost test for screening the most common Parkinson's disease-related GBA variants.*

**Parkinsonism Relat Disord.** 2020 Nov;80:138-141. doi: 10.1016/j.parkreldis.2020.09.036.  
Epub 2020 Sep 22.

Di Rocco M, Di Fonzo A, Barbato A, Cappellini MD, Carubbi F, Giona F, Giuffrida G, Linari S, Pession A, Quarta A, Scarpa M, Spada M, Strisciuglio P, Andria G.

*Parkinson's disease in Gaucher disease patients: what's changing in the counseling and management of patients and their relatives?*

**Orphanet J Rare Dis.** 2020 Sep 23;15(1):262. doi: 10.1186/s13023-020-01529-y.

Monfrini E, Ronchi D, Franco G, Garbellini M, Straniero L, Scola E, Arienti F, Duga S, Comi GP, Bresolin N, Di Fonzo A.

*Late-onset leukoencephalopathy in a patient with recessive EARS2 mutations.*

**Neurol Genet.** 2020 Jul 13;6(5):e488. doi: 10.1212/NXG.0000000000000488

Lopez G, Lazzeri G, Rappa A, Isimbaldi G, Cribiù FM, Guerini-Rocco E, Ferrero S, Vaira V, Di Fonzo A.

*Comprehensive Genomic Analysis Reveals the Prognostic Role of LRRK2 Copy-Number Variations in Human Malignancies.*

**Genes** (Basel). 2020 Jul 24;11(8):846. doi: 10.3390/genes11080846.

Albanese A, Di Fonzo A, Fetoni V, Franzini A, Gennuso M, Molini G, Pacchetti C, Priori A, Riboldazzi G, Volonté MA, Calandrella D.

*Design and Operation of the Lombardy Parkinson's Disease Network.*

**Front Neurol.** 2020 Jun 26;11:573. doi: 10.3389/fneur.2020.00573.

Petrucci S, Ginevrino M, Trezzi I, Monfrini E, Ricciardi L, Albanese A, Avenali M, Barone P, Bentivoglio AR, Bonifati V, Bove F, Bonanni L, Brusa L, Cereda C, Cossu G, Criscuolo C, Dati G, De Rosa A, Eleopra R, Fabbrini G, Fadda L, Garbellini M, Minafra B, Onofri M, Pacchetti C, Palmieri I, Pellicchia MT, Petracca M, Picillo M, Pisani A, Vallelunga A, Zangaglia R, Di Fonzo A, Morgante F, Valente EM; ITA-GENE-PD Study Group.

*GBA-Related Parkinson's Disease: Dissection of Genotype-Phenotype Correlates in a Large Italian Cohort.*

**Mov Disord.** 2020 Nov;35(11):2106-2111. doi: 10.1002/mds.28195. Epub 2020 Jul 13.

Bitetto G, Di Fonzo A.

*Nucleo-cytoplasmic transport defects and protein aggregates in neurodegeneration.*

**Transl Neurodegener.** 2020 Jul 3;9(1):25. doi: 10.1186/s40035-020-00205-2.

Monzio Compagnoni G, Di Fonzo A, Corti S, Comi GP, Bresolin N, Masliah E.

*The Role of Mitochondria in Neurodegenerative Diseases: the Lesson from Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease.*

**Mol Neurobiol.** 2020 Jul;57(7):2959-2980. doi: 10.1007/s12035-020-01926-1.

**Microscopic Polyangiitis With Selective Involvement of Central and Peripheral Nervous System: A Case Report.** Arienti F, Franco G, Monfrini E, Santaniello A, Bresolin N, Saetti MC, Di Fonzo A. **Front Neurol.** 2020 Apr 28;11:269. doi: 10.3389/fneur.2020.00269.

Bonomo G, Monfrini E, Borellini L, Bonomo R, Arienti F, Saetti MC, Di Fonzo A, Locatelli M.

*Systemic involvement in adult-onset leukoencephalopathy with intracranial calcifications and cysts (Labrune syndrome) with a novel mutation of the SNORD118 gene.*

**Eur J Neurol.** 2020 Nov;27(11):2329-2332. doi: 10.1111/ene.14313.

PMID: 32400930

Ronchi D, Monfrini E, Bonato S, Mancinelli V, Cinnante C, Salani S, Bordoni A, Ciscato P, Fortunato F, Villa M, Di Fonzo A, Corti S, Bresolin N, Comi GP.

*Dystonia-ataxia syndrome with permanent torsional nystagmus caused by ECHS1 deficiency.*

**Ann Clin Transl Neurol.** 2020 May;7(5):839-845. doi: 10.1002/acn3.51025. Epub 2020 Apr 24.

Bitetto G, Malaguti MC, Ceravolo R, Monfrini E, Straniero L, Morini A, Di Giacopo R, Frosini D, Palermo G, Biella F, Ronchi D, Duga S, Taroni F, Corti S, Comi GP, Bresolin N, Giometto B, Di Fonzo A.

*SLC25A46 mutations in patients with Parkinson's Disease and optic atrophy.*

**Parkinsonism Relat Disord.** 2020 May;74:1-5. doi: 10.1016/j.parkreldis.2020.03.018. Epub 2020 Apr 2.

Erro R, Di Fonzo A, Percetti M, Monfrini E, Scannapieco S, Picillo M, Barone P.

*Childhood-onset dystonia with cerebellar signs: expanding the spectrum of GNAL mutations.*

**Eur J Neurol.** 2020 Nov;27(11):e66-e67. doi: 10.1111/ene.14220. Epub 2020 Apr 3.





## **U.O.S. STROKE UNIT**

### **RESPONSABILE:**

**Dott. ssa Sara Bonato**

### **MEDICI:**

Dott.ssa Isabella Ghione

Dott.ssa Silvia Lanfranconi

Dott. Ghil schwarz

Dott.ssa Gloria Valcamonica

Dott. Davide Villa

Nel corso dell'anno 2020 alla Stroke Unit è stata assegnata una nuova sede al secondo piano del Padiglione Monteggia, con un incremento del numero di posti letto da quattro a otto e personale infermieristico dedicato.

Ciascuna postazione è dotata di una nuova strumentazione per il monitoraggio continuo dei parametri vitali, per la somministrazione di farmaci, nutrizione ed idratazione in infusione continua e per il supporto ventilatorio non invasivo.

L'unità è stata inoltre dotata di nuovo apparecchio ecografico per la diagnosi ecografica dei vasi e del cuore.

Grazie a questo nuovo assetto è stato possibile incrementare notevolmente la quantità e la qualità dell'assistenza del paziente con ictus acuto.

In relazione alle più recenti linee guida internazionali, abbiamo aggiornato il percorso diagnostico-terapeutico assistenziale (PDTA) dell'ictus ischemico acuto di Fondazione, garantendo l'applicazione delle 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 al momento utilizzati nell'ambito di due progetti di ricerca riguardanti la sicurezza e l'efficacia delle procedure di rivascolarizzazione in fase acuta in sottogruppi specifici.

Il primo progetto è il seguente:

### **1) 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 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.

È 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.

Il secondo progetto riguarda pazienti con ictus ischemico acuto clinicamente lieve all'esordio:

## **2) 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 quello di valutare le caratteristiche clinico/radiologiche e l'outcome dei pazienti trattati (rtPA e/o trombectomia meccanica) e non trattati con ictus ischemico lieve, con l'intento di fornire uno strumento addizionale 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) verrà 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) verrà 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), verrà valutata e quantificata l'associazione tra l'intervento terapeutico in acuto e la presenza di complicanze emorragiche intracraniche.

Un'altra area d'interesse del gruppo Stroke è rappresentata dalle cause rare di ictus e dall'ictus giovanile.

Nel 2020 abbiamo studiato e caratterizzato alcuni casi particolari, due dei quali sono stati oggetto di pubblicazione. Il primo riguarda un paziente affetto da pseudoxantoma elasticum, una patologia rara responsabile di stroke ricorrenti. Le strategie di prevenzione di prevenzione acuta e secondaria in questi soggetti, dato l'aumento del rischio di emorragie gastrointestinali e urinarie, sono poco conosciute. In questo lavoro abbiamo descritto il caso di un paziente affetto da pseudoxantoma elastico che presentava ictus ischemico acuto che abbiamo trattato con successo in acuto con trombolisi endovenosa. Quello da noi descritto è il primo caso di ictus correlato allo pseudoxantoma elastico sottoposto a questo tipo di trattamento.

Il secondo riguarda una famiglia i cui membri presentano ictus giovanili. Dopo studi clinico-radiologici e genetico-molecolari è stato possibile ipotizzare che alcuni membri della famiglia in esame erano affetti da Teleangectasia Emorragica Ereditaria. Tale sospetto è stato confermato dall'indagine genetico molecolare che ha evidenziato la presenza di una nuova mutazione, mai precedentemente descritta, gene, ENG (endoglin), associato alla patologia e responsabile della formazione di teleangectasie polmonari.

Un altro grande capitolo trattato da alcuni membri del team Stroke è quello dell'angiomatosi multipla cerebrale quale causa rara di emorragia intraparenchimale.

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

Il Policlinico è Centro Coordinatore dello studio prospettico multicentrico italiano Treat CCM, finanziato da AIFA, volto a verificare i potenziali effetti benefici del trattamento con Propranololo in questa patologia. Lo studio è attualmente in corso e i risultati sono attesi per l'inizio del 2022.

Monfrini E, Tocco P, Bonato S, Tosi M, Melzi V, Frattini E, Franco G, Corti S, Comi GP, Bresolin N, Di Fonzo A.

*Expanding the genotypic and phenotypic spectrum of Beta-propeller protein-associated neurodegeneration.*

**Eur J Neurol.** 2020

Villa D, Cinnante C, Valcamonica G, Manenti G, Lanfranconi S, Colombi A, Ghione I, Saetti MC, D'Amico M, Bonato S, Bresolin N, Comi GP, Ronchi D.

*Hereditary hemorrhagic telangiectasia associated with cortical development malformation due to a start loss mutation in ENG.*

**BMC Neurol.** 2020 Aug 26;20(1):316.

Lanfranconi S, Ghione I, Valcamonica G, Corti SP, Bonato S, Bresolin N.

*Safety and efficacy of rt-PA treatment for acute stroke in pseudoxanthoma elasticum: the first report.*

**J Thromb Thrombolysis.** 2020 May 26.

Ronchi D, Monfrini E, Bonato S, Mancinelli V, Cinnante C, Salani S, Bordoni A, Ciscato P, Fortunato F, Villa M, Di Fonzo A, Corti S, Bresolin N, Comi GP.

*Dystonia-ataxia syndrome with permanent torsional nystagmus caused by ECHS1 deficiency.*

**Ann Clin Transl Neurol.** 2020 May;7(5):839-845.

Fusco C, Nardella G, Petracca A, Ronchi D, Paciello N, Di Giacomo M, Gambardella S, Lanfranconi S, Zampatti S, D'Agruma L, Micale L, Castori M.

*Improving clinical interpretation of five KRIT1 and PDCD10 intronic variants.*

**Clin Genet.** 2021 Feb 18.

Pietroboni AM, Lanfranconi S, Novella A, Carandini T, Arighi A, Abati E, Brusa R, Costamagna G, Lazzeri G, Mauri E, Pozzato M, Sacchi L, Valcamonica G, Villa D, Bonato S, Comi GP, Bresolin N, Galimberti D, Scarpini E, Nobili A;

Neurology-COVID-19 Group. Clinical features and disease course of patients with acute ischaemic stroke just before the Italian index case: Was COVID-19 already there?

**Intern Emerg Med.** 2021 Feb 10:1–6.

Villa D, Cinnante C, Valcamonica G, Manenti G, Lanfranconi S, Colombi A, Ghione I, Saetti MC, D'Amico M, Bonato S, Bresolin N, Comi GP, Ronchi D.

Hereditary hemorrhagic telangiectasia associated with cortical development malformation due to a start loss mutation in ENG.

**BMC Neurol.** 2020 Aug 26;20(1):316.

Lanfranconi S, Ghione I, Valcamonica G, Corti SP, Bonato S, Bresolin N.

*Safety and efficacy of rt-PA treatment for acute stroke in pseudoxanthoma elasticum: the first report.*

**J Thromb Thrombolysis.** 2021 Jan;51(1):176-179.

Lanfranconi S, Scola E, Bertani GA, Zarino B, Pallini R, d'Alessandris G, Mazzon E, Marino S, Carriero MR, Scelzo E, Faragò G, Castori M, Fusco C, Petracca A, d'Agruma L, Tassi L, d'Orio P, Lampugnani MG, Nicolis EB, Vasamì A, Novelli D, Torri V, Meessen JMTA, Al-Shahi Salman R, Dejana E, Latini R; Treat- CCM

*Investigators. Propranolol for familial cerebral cavernous malformation (Treat\_CCM): study protocol for a randomized controlled pilot trial.*

**Trials.** 2020 May 12;21(1):401.

Bersano A, Scelzo E, Pantoni L, Morotti A, Erbetta A, Chiapparini L, Vitali P, Giaccone G, Caroppo P, Catania M, Obici L, Di Fede G, Gatti L, Tinelli F, Di Francesco JC, Piazza F, Ferrarese C, Gasparini M, Adobbati L, Bianchi-Marzoli S, Tremolada G, Sacco S, Mancuso M, Zedde ML, Godani M, Lanfranconi S, Pareyson D Di Girolamo M, Motto C, Charidimou A, Boulouis G, Parati EA; SENECA project.

*Discovering the Italian phenotype of cerebral amyloid angiopathy (CAA): the SENECA project.*

**Neurol Sci.** 2020 Aug;41(8):2193-2200.

Traenka C, Grond-Ginsbach C, Goeggel Simonetti B, Metso TM, Debette S, Pezzini A, Kloss M, Majersik JJ, Southerland AM, Leys D, Baumgartner R, Caso V, Béjot Y, De Marchis GM,

Fischer U, Polymeris A, Sarikaya H, Thijs V, Worrall BB, Bersano A, Brandt T, Gensicke H, Bonati LH, Touzé E, Martin JJ, Chabriat H, Tatlisumak T, Arnold M, Engelter ST, Lyrer P; CADISP-Plus Study Group.

*Artery occlusion independently predicts unfavorable outcome in cervical artery dissection.*

**Neurology.** 2020 Jan 14;94(2):e170-e180.

## **LABORATORIO CELLULE STAMINALI**

### **RESPONSABILE:**

**Professor Yvan Torrente**                      Neurologo Universitario in convenzione

### **PERSONALE:**

Marzia Belicchi	biologa con contratto a tempo indeterminato di tecnico di laboratorio laureato universitario
Mirella Meregalli	biologa con contratto a tempo indeterminato di tecnico di laboratorio laureato universitario
Andrea Farini	biologo, PostDoc, Ricercatore sanitario ospedaliero (piramidato)
Silvia Erratico	biotecnologa, contrattista annuale
Chiara Villa	bioingegnere, PostDoc con assegno universitario di tipo B annuale
Mariella Legato	biologa con borsa annuale ospedaliera
Luana Tripodi	dottoranda in Medicina Traslazionale 36° ciclo
Nefele Giarratana	biotecnologa con borsa annuale ospedaliera
Monica Valitutti	studentessa della facoltà di Biologia applicata alla ricerca biomedica, tirocinante per tesi magistrale dei 5 anni
Sabrina Leotta	studentessa della facoltà di Biotecnologia del Farmaco, tirocinante per tesi magistrale
Davide Molinaro	studente del VI anno della facoltà di Medicina e Chirurgia (IMS), tirocinante programma Virgilio, I ciclo.
Gendenver Cadio	biotecnologo con borsa annuale ospedaliera
Valeria Penati	studente del VI anno della facoltà di Medicina e Chirurgia tirocinante per tesi magistrale

Margherita La Salvia	studentessa della facoltà di biologia applicata alla scienza della alimentazione, tirocinante per tesi magistrale dei 5 anni
Jacopo Spagliardi	studente del VI anno della facoltà di Medicina e Chirurgia, tirocinante per tesi magistrale
Naima Guarrata,	dottore in economia, project manager contrattista



Consuntivo dell'attività di ricerca svolta nel corso dell'anno 2020 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 2020 il gruppo di lavoro diretto dal professor Torrente ha approfondito la propria ricerca nell'ambito delle patologie neuromuscolari ed in particolare della distrofia muscolare di Duchenne, patologia ancora oggi priva di cure risolutive.

Anche quest'anno i progetti di ricerca del Laboratorio del Prof. Torrente hanno sviluppato tre filoni sperimentali che riguardano temi quali l'omeostasi muscolare, le cellule staminali ed il ruolo dell'immunità nelle malattie muscolari.

### **Omeostasi Muscolare**

Numerose evidenze scientifiche dimostrano che farmaci antitumorali come la doxorubicina (DOX), conosciuta anche con il nome di adriamicina, un antibiotico antineoplastico della famiglia delle antracicline, abbiano numerosi effetti collaterali e uno dei più importanti, che costituisce un limite nel loro utilizzo, è il rischio di cardiotossicità sia precoce che tardiva.

Ugualmente l'insorgere di disfunzioni mitocondriali costituisce un elemento critico poiché la DOX si accumula nei mitocondri, legandosi alla cardiolipina, fosfolipide della membrana interna del mitocondrio, e complessa con le proteine delle vie respiratorie. L'elevata produzione di radicali liberi dell'ossigeno (ROS) causa un problema a livello mitocondriale con successiva riduzione della sintesi di ATP e l'apoptosi delle cellule cardiache.

Sulla base di queste evidenze il gruppo di ricerca diretto dal prof. Torrente quest'anno ha pubblicato un lavoro sulla rivista internazionale **"Nutrients"** in collaborazione con il gruppo di ricerca diretto dal prof. Nisoli del Dipartimento di Biotecnologie Mediche e Medicina Traslazionale dell'Università degli Studi di Milano. In questo lavoro viene dimostrato come il trattamento in cardiomiociti HL-1 ed in modelli murini di una nuova miscela chiamata  $\alpha 5$  composta da amminoacidi essenziali, precursori dell'acido tricarbossilico e co-fattori, sia in grado di prevenire il danno mitocondriale indotto da trattamento con DOX e lo stress ossidativo. Questa nuova miscela si è rivelata più efficiente rispetto all'utilizzo di una miscela di amminoacidi ramificati (Branched Chain Amino Acids, BCAA) precedentemente studiata ed i cui effetti positivi sulla rigenerazione muscolare sono stati pubblicati dalla rivista scientifica Scientific Report. Dal punto di vista meccanicistico si è dimostrato che la supplementazione dietologica con la nuova miscela  $\alpha 5$  svolge un'azione protettiva tramite l'attivazione del processo biologico mediato da Krüppel-like factor 15 (KLF15), eNOS, ed mTOR.

L'identificazione di una terapia coadiuvante l'omeostasi muscolare rappresenta un'opportunità per i pazienti distrofici, nel migliorare la loro qualità di vita, prolungare il tempo di cammino autonomo e ridurre l'affaticabilità.

Interessante sottolineare il ruolo dei fattori di crescita insulino-simili (IGFs) tra i processi metabolici muscolari influenzati dalla dieta ricca di flavonoidi e di acidi grassi. Questi fattori di crescita IGFs svolgono un ruolo rilevante nello sviluppo e rigenerazione del tessuto muscolare. Tra i fattori di crescita insulino-simili, l'IGF2 ha il ruolo di regolare la crescita cellulare, la sopravvivenza, la migrazione e il differenziamento. Il legame tra IGF2 ed il suo recettore (IGF2R) induce la degradazione lisosomiale di IGF2. Quindi, IGF2R serve per regolare la biodisponibilità e la funzione di IGF2.

La fragilità di membrana delle fibre distrofiche determina un'alterata entrata di  $\text{Ca}^{2+}$  nelle fibre muscolari. L'aumento della concentrazione di calcio attiva una serie di enzimi ad azione degradativa sia sulle proteine, come le proteasi neutre tipo calpaina, sia sui fosfolipidi di membrana, come la fosfolipasi A2 con conseguente necrosi della fibra muscolare.

In associazione all'aumento dell'afflusso di  $\text{Ca}^{2+}$  nelle fibre muscolari distrofiche è stato osservato l'aumento del recettore dell'IGF2 nelle fibre muscolari dei pazienti affetti da DMD.

L'eccessiva presenza di IGF2R, sottrae al muscolo l'IGF, indispensabile per la corretta omeostasi muscolare. Uno dei protagonisti della rigenerazione muscolare viene quindi meno, poiché sequestrato dal suo recettore che è troppo espresso. L'eccessiva espressione di IGF2R nei muscoli distrofici si associa ad una disfunzione di proteine coinvolte nella regolazione del  $Ca^{2+}$  nel reticolo sarcoplasmatico denominate SERCA. Queste evidenze sperimentali sono in parte l'oggetto di un lavoro pubblicato nel 2020 sulla prestigiosa rivista **“Embo Molecular Medicine”** dove è stato messo a punto un protocollo terapeutico che prevede l'inibizione dell'IGF2R al fine di riparare i muscoli distrofici danneggiati. Tale approccio sperimentale favorisce la rigenerazione muscolare dei tessuti muscolari distrofici con conseguente incremento della forza muscolare, rappresentando un passo importante verso lo sviluppo di un nuovo approccio terapeutico nel trattamento della DMD. In questo stesso ambito nel 2020 è stata pubblicata anche una review sulla rivista **“Cells”** in cui vengono discussi i processi patologici indotti dalla sovra-espressione di IGF2R nei muscoli distrofici con conseguente alterazione dell'omeostasi del muscolo.

### **Cellule Staminali**

Da molti anni è nota l'importanza della scoperta di poter riprogrammare cellule specializzate adulte in cellule staminali pluripotenti indotte denominate iPSCs. Queste cellule sono paragonabili alle cellule staminali embrionali, ma prive di qualsiasi problema etico non dovendo ricorrere all'utilizzo di embrioni umani. L'utilizzo di iPSCs permette di ottenere una sorgente cellulare da pazienti con malattie rare che altrimenti non sarebbe disponibile per studi biomolecolari di risposta a nuovi farmaci. A tale fine, l'ottenimento di linee iPSCs da pazienti distrofici potrebbe rappresentare un vantaggio scientifico per la comunità dei ricercatori impegnati nella ricerca nel campo delle distrofie muscolari. In tal senso nel 2020 il gruppo di ricerca diretto dal prof. Torrente ha pubblicato sulla rivista scientifica internazionale **“Stem Cell Research”** un lavoro svolto in collaborazione con il gruppo di ricerca del prof. Pompilio, vicedirettore scientifico del Centro Cardiologico Monzino, pioniere in Italia dell'impiego delle terapie biologiche avanzate in ambito cardiovascolare. In questo lavoro viene descritta la creazione di linee di iPSCs a partire da fibroblasti di pazienti affetti da distrofia muscolare di Becker (BMD) portatori di mutazione di splicing nel gene della distrofina (c.1705-8 T>C). Le iPSCs BMD sono cellule pluripotenti e danno origine a cardiomiociti che sono l'oggetto di ricerche future indirizzate alla selezione di nuovi composti con potenziali effetti terapeutici nella prevenzione e trattamento della cardiomiopatia dilatativa.

Nel 2020 il gruppo di ricerca del prof. Torrente ha collaborato anche con il gruppo di ricerca diretto dal prof. Maurilio Sampaolesi direttore del Laboratorio di Cardiomiologia traslazionale del "Stem Cell Research Institute" di Leuven in **Belgio**. Oggetto di questa collaborazione è stata la messa a punto di una tecnologia all'avanguardia denominata **“Single-Cell RNA Sequencing”**, che permette di caratterizzare l'espressione genica di ogni singola cellula. I risultati di questa ricerca sono stati pubblicati dalla prestigiosa rivista scientifica **“Cell Reports”**. In questo lavoro scientifico è stata studiata ed isolata per la prima volta una popolazione di cellule muscolari interstiziali isolate da muscoli di pazienti e modelli murini affetti da DMD. Queste cellule sono in grado di inibire l'adipogenesi attraverso la secrezione del fattore di crescita GDF10 (Growth differentiation factor 10) rappresentando un importante spunto terapeutico per la riduzione dell'adipogenesi. Interessante notare come queste cellule regolatrici dell'adipogenesi siano diminuite nei muscoli distrofici DMD spiegando in parte l'aberrante deposizione di tessuto adiposo che caratterizza il muscolo distrofico. La collaborazione con il gruppo di ricerca del prof. Sampaolesi ha permesso di pubblicare i risultati di un'altra ricerca sulla rivista scientifica **“Cell Death and Disease”**. In quest'altro studio i ricercatori dimostrano che MICAL2 (Microtubule Associated Monooxygenase, Calponin And LIM Domain Containing 2) aumenta durante il differenziamento del muscolo

scheletrico, liscio e cardiaco e si localizza nei nuclei delle fibre muscolari durante la rigenerazione muscolare. La somministrazione in vivo dei complessi del gene Cas9-Mical2 determina difetti nella actina muscolare e dimostra che MICAL2 è essenziale per l'omeostasi e la corretta funzionalità del muscolo scheletrico. Questi dati dimostrano che la modulazione di MICAL2 influenza la dinamica dei filamenti muscolari e il suo bilanciamento fine è essenziale per la rigenerazione dei tessuti muscolari.

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

Tra le ricerche condotte nel 2020, vi è lo studio mirato al ruolo di alcune pentrassine nella modulazione dell'immunità nel contesto della distrofia muscolare. Le pentrassine sono una super-famiglia di proteine che riveste un ruolo fondamentale nella risposta infiammatoria e nel sistema immunitario innato. PTX3 è una molecola appartenente ad una nuova famiglia di pentrassine, dette 'lunghe', è una molecola multifunzionale ed è essenziale per la resistenza ad alcuni patogeni, un dato questo che ne ha incoraggiato lo studio per lo sviluppo delle sue proprietà anche dal punto di vista clinico.

In questo studio è stato dimostrato che PTX3 svolge la propria funzione nella fase infiammatoria interagendo con la proteina P-selettina, espressa dalle cellule endoteliali in presenza di un danno tissutale o di uno stimolo infiammatorio. Mediante l'interazione con la P-selettina, PTX3 rallenta e limita l'infiltrazione dei leucociti nel sito infiammato, agendo localmente per ridurre il loro reclutamento e regolando in tal modo la risposta infiammatoria. Si tratta di una scoperta importante pubblicato sulla rivista **"Frontiers in Physiology"** che vede l'utilizzo di PTX3 quale biomarker di danno del miocardio. Nel lavoro viene dimostrata la coespressione della subunità PSMB8 dell'immunoproteasoma (IP) e di PTX3 nel cuore di modelli murini distrofici e la riduzione dell'espressione di PTX3 in seguito all'inibizione dell'IP. Inoltre è stato dimostrato che l'espressione di PTX3 aumenta con l'avanzare della patologia distrofica nei muscoli e nel cuore con una sua marcata localizzazione nelle aree fibrotiche e perivascolari. I dati di questo lavoro dimostrano che le disfunzioni cardiache dell'mdx potrebbero in parte essere dovute ad un meccanismo infiammatorio in cui PTX3 è coinvolto insieme ad altre proteine quali S100b, HMGB1, TLR5 e TLR9 con un conseguente incremento della deposizione di collagene e della fibrosi. I risultati ottenuti suggeriscono quindi che i livelli cardiaci di PTX3 potrebbero avere un valore prognostico e un importante potenziale nello sviluppo di una terapia per la cardiomiopatia dilatativa della DMD.

### **Nuove linee di ricerca nate da recenti collaborazioni.**

I recenti sviluppi tecnologici hanno evidenziato l'importanza dei modelli computazionali nelle analisi dei risultati e nella previsione dei comportamenti cellulari e biomeccanici dei tessuti.

In questo senso, si è instaurata una proficua collaborazione con Marco Stefanati, Dottore di ricerca in Bioingegneria e il Prof. Rodríguez Matas del Laboratorio di Meccanica delle Strutture Biologiche del Politecnico di Milano, che ha permesso nel 2020 la pubblicazione di due lavori scientifici. Il primo studio pubblicato sulla rivista **"Journal of the Mechanics and Physics of Solids"** descrive un modello matematico tridimensionale chemo-meccanico del muscolo scheletrico distrofico. Questo modello si basa su dati di stress da sforzo meccanico del muscolo e studi sui cambiamenti nella struttura e nell'interazione delle fibre volti a chiarire i meccanismi biofisici che regolano la contrazione muscolare. I risultati mostrano che il modello è in grado di riprodurre i dati sperimentali di massima forza isometrica, massima velocità di contrazione e curva F-V concentrica normalizzata per il muscolo sano e distrofico. Inoltre, il modello è in grado di prevedere la risposta forza-velocità del muscolo al carico eccentrico ed è in grado di riprodurre la curva FV concentrica normalizzata della fibra sana, come ulteriore prova delle capacità predittive di questo modello. Il modello quindi rappresenta un nuovo approccio allo studio della patogenesi della DMD fornendo

informazioni sui meccanismi alla base della risposta muscolare alla forza associata, alla ridotta funzionalità muscolare.

Il secondo studio, pubblicato sulla rivista scientifica internazionale **“Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials”**, rappresenta un’ulteriore passo avanti nella riproduzione del muscolo scheletrico distrofico; il modello descritto infatti include anche la microstruttura del muscolo, tenendo conto della dispersione nell’orientamento delle miofibrille, e delle alterazioni nel pattern dei sarcomeri e nella ramificazione delle fibre. I risultati ottenuti con tale modello confermano l’esistenza nel muscolo distrofico di una correlazione significativa tra la dispersione miofibrillare e la riduzione della forza isometrica ed indicano che la riduzione della velocità di contrazione nel muscolo distrofico potrebbe essere associata ai disordini locali nel pattern sarcomerici delle miofibrille. Il modello descritto in questo studio rappresenta un approccio originale per lo studio di anomalie presenti nell’ultrastruttura muscolare causate da patologie quali la distrofia muscolare di Duchenne e costituisce pertanto uno strumento innovativo per prevedere la risposta muscolare in presenza di nuove terapie.

Altra collaborazione nata per lo studio dei fenomeni degenerativi legati all’invecchiamento muscolare è quella con il prof. Robert J. Bryson-Richardson direttore del gruppo di ricerca di Malattie neuromuscolari all’Istituto di Medicina Rigenerativa all’Università Monash di Melbourne. Questa collaborazione ha permesso di pubblicare i risultati ottenuti dallo studio di una miopatia miofibrillare causata da mutazione del gene BAG3 nella prestigiosa rivista scientifica **“Autophagy”**. In questo studio è stato generato un modello di zebrafish che esprime transitoriamente la mutazione BAG3<sup>P209L</sup> nelle cellule muscolari. La caratterizzazione dettagliata di questo modello di patologia miofibrillare ha rivelato una compromissione dell’attività macroautofagica/autofagica. I risultati di questo studio evidenziano che BAG3 mutato viene sequestrato in aggregati con conseguente riduzione dell’attività autofagica e debolezza muscolare. Al fine di correggere il meccanismo autofagico alterato, sono stati testati diversi composti farmacologici. I risultati di questi test hanno evidenziato che la metformina è in grado di determinare la rimozione delle proteine che si aggregano nello zebrafish e nei mioblasti umani, e di salvaguardare la degenerazione delle fibre muscolari ed il deficit natatorio osservato nello zebrafish bag3<sup>-/-</sup>. Pertanto, l’utilizzo della metformina potrebbe rappresentare un elemento promettente per la terapia della miopatia miofibrillare.

La sinergia tra diversi medici con differenti specializzazioni afferenti alla Fondazione IRCCS ca’ Granda Policlinico, all’Istituto Europeo di Oncologia IEO di Milano e al Dipartimento di Scienze Chirurgiche e Diagnostica Integrata dell’Università di Genova ha permesso al prof. Torrente di pubblicare nel 2020 sulla rivista scientifica **“Drugs in context”** una review in cui viene descritta la patofisiologia di dermatiti indotte da radiazioni (RID) in seguito a patologie oncologiche e l’uso di prodotti topici in grado di proteggere e promuovere la riparazione del tessuto in pazienti affetti da RID.

Durante il 2021 il professor Torrente ha continuato la sua attività di revisore di lavori scientifici per numerose prestigiose riviste internazionali e di progetti di ricerca ministeriali e internazionali; inoltre da alcuni anni fa parte dell’editorial board delle riviste scientifiche Scientific Reports e CellR4 che sono giornali multidisciplinari focalizzati in particolare sulla riprogrammazione, differenziamento e rigenerazione cellulare; continua il suo impegno quale Consigliere della Stem Cell Research Italy (SCR) e di UNISTEM e da un anno è anche Membro della Commissione Scientifica TACT (TREAT-NMD Advisory Committee for Therapeutics).

Infine nel 2020 il prof. Torrente, ha proseguito la sua attività didattica presso l’Università degli Studi di Milano quale docente del V anno di Medicina e della scuola di specializzazione

in Neurologia e per la lezione “Cellule staminali e medicina rigenerativa” all’interno del Master di Farmacologia Oncologica del Prof Alberto Corsini del Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, docente per il seminario integrativo “Fisiologia e biochimica cellulare di cellule staminali per la terapia di malattie neuromuscolari” del Corso di Fisiologia (Docente Ref. Prof. Roberto Maggi) CdL Magistrale a ciclo unico in Farmacia – Facoltà di Scienze del Farmaco e docente per il VII° modulo del Corso di Master in Farmacia e Farmacologia Oncologica del Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, inoltre da quest’anno il prof Torrente è Membro del Collegio dei docenti del Corso di Dottorato di ricerca in Medicina Traslazionale – Università degli Studi di Milano.

## ELENCO PUBBLICAZIONI SU RIVISTE INTERNAZIONALI RECENSITE

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

*A Special Amino-Acid Formula Tailored to Boosting Cell Respiration Prevents Mitochondrial Dysfunction and Oxidative Stress Caused by Doxorubicin in Mouse Cardiomyocytes*

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

**Nutrients**, 21 January 2020 | Volume 12 | Article 282 **I.F.: 4.546**

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

*Blockade of IGF2R improves muscle regeneration and ameliorates Duchenne muscular dystrophy*

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

**EMBO Molecular Medicine** 12: e11019 | 2020. **I.F.: 8.821**

Andrea Farini, Chiara Villa, Dario Di Silvestre, Pamela Bella, Luana Tripodi, Rossana Rossi, Clementina Sitzia, Stefano Gatti, Pierluigi Mauri and Yvan Torrente

*PTX3 Predicts Myocardial Damage and Fibrosis in 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

**Frontiers in Physiology** May 2020 | Volume 11 | Article 403 **I.F.: 3.367**

Davide Rovinaa, Elisa Castiglioni, Francesco Niroa, Andrea Farinib, Marzia Belicchi, Elisabetta Di Fede, Cristina Gervasini, Stefania Paganini, Marina Di Segni, Yvan Torrente, Rosaria Santoro, Giulio Pompilioa, Aoife Gowran

*Generation of the Becker muscular dystrophy patient derived induced pluripotent stem cell line carrying the DMD splicing mutation c.1705-8 T>C.*

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

**Stem Cell Research** 45 (2020) 101819 **I.F.: 4.489**

Avnika A. Ruparelia, Emily A. McKaige, Caitlin Williams, Keith E. Schulze, Margit Fuchs, Viola Oorschot, Emmanuelle Lacene, Mirella Meregalli, Clara Lee, Rita J. Serrano, Emily C.

Baxter, Keyne Monro, Yvan Torrente, Georg Ramm, Tanya Stojkovic, Josée N. Lavoie & Robert J. Bryson-Richardson

*Metformin rescues muscle function in BAG3 myofibrillar myopathy models*

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

**Autophagy** 1 October 2020 **I.F.: 9.770**

Yvan Torrente, Pamela Bella, Luana Tripodi, Chiara Villa and Andrea Farini

*Role of Insulin-Like Growth Factor Receptor 2 across Muscle Homeostasis: Implications for Treating Muscular Dystrophy*

Stem Cell Laboratory, Department of Pathophysiology and Transplantation, University of Milan,

Unit of Neurology, Fondazione IRCCS Cà Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Dino Ferrari Center, 20122 Milan, Italy

**Cells** 2020, 9, 441 **I.F.: 4.366**

Nefele Giarratana, Filippo Conti, Rita La Rovere, Rik Gijsbers, Paolo Carai, Robin Duelen, Tim Vervliet, Geert Bultynck, Flavio Ronzoni, Roberto Piciotti, Domiziana Costamagna, Stefania Fulle, Ivana Barravecchia, Debora Angeloni, Yvan Torrente and Maurilio Sampaolesi

*MICAL2 is essential for myogenic lineage commitment*

**Cell Death and Disease** (2020) 11:654 **I.F.: 6.304**

Jordi Camps, Natacha Breuls, Alejandro Sifrim, Nefele Giarratana, Marlies Corvelyn, Laura Danti, Hanne Grosemans, Sebastiaan Vanuytven, Irina Thiry, Marzia Belicchi, Mirella Meregalli, Khrystyna Platko, Melissa E. MacDonald, Richard C. Austin, Rik Gijsbers, Giulio Cossu, Yvan Torrente, Thierry Voet and Maurilio Sampaolesi

*Interstitial Cell Remodeling Promotes Aberrant Adipogenesis in Dystrophic Muscles*

**Cell Reports** 31, 107597, May 5, 2020 **I.F.: 8.109**

Marco Stefanati, \*, Chiara Villa, Yvan Torrente, José Félix Rodríguez Matas

*A mathematical model of healthy and dystrophic skeletal muscle biomechanics*

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

**Journal of the Mechanics and Physics of Solids** 134 (2020) 103747 **I.F.: 5.00**

Marco Stefanati, Yvan Torrente, José Félix Rodríguez Matas

*Effect of myofibril architecture on the active contraction of dystrophic muscle. A mathematical model.*

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

**Journal of the mechanical behavior of biomedical materials** 114 (2021) 104214 **I.F.: 3.67**

Nicola Alessandro Iacovelli, Yvan Torrente, Adriana Ciuffreda, Vittorio A Guardamagna, Marta Gentili, Luca Giacomelli, Paola Sacerdote

*Topical treatment of radiation-induced dermatitis: current issues and potential solutions*

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

**Drugs in Context** 2020; 9: 2020-4-7. **I.F.: 2.04**

## **ELENCO DEI PROGETTI DI RICERCA FINANZIATI ED ANCORA IN CORSO**

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

Ente finanziatore: Donazione Liberale

Ruolo nel Progetto: PI

Finanziamento: 50.000 euro

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

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

Ruolo nel Progetto: Co-PI

Finanziamento totale : 3.000.000,00 euro

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

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

Ruolo nel Progetto: Co-PI

Finanziamento: 207.845 euro

Titolo progetto: “Ruolo delle alterazioni mitocondriali nelle patologie neuromuscolari”

Enti finanziatori: Ricerca Corrente Fondazione IRCCS Ca’ Granda Ospedale Maggiore Policlinico

Ruolo nel Progetto: Co-PI

Finanziamento:

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

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

Ruolo nel Progetto: PI

Finanziamento: 100.000 euro

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

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

Ruolo nel Progetto: PI

Finanziamento: 245.000 euro

## **ELENCO COLLABORAZIONI INTERNAZIONALI E NAZIONALI DEL LABORATORIO CELLULE STAMINALI**

**Prof. Yvan Torrente**

- **Luis Garcia**, UPMC Um76, Inserm U974, CNRS UMR7215, Institut de Myologie, Paris, France
- **Camillo Ricordi**, Director of the Diabetes Research Institute (DRI) and the Cell Transplant Center, University of Miami (UM), Miami, Florida
- **Giulio Cossu**, Institute of Inflammation and repair, University of Manchester, Manchester, UK
- **Fulvio Mavilio**, Scientific Director of Genethon, Evry, France

- **Pura Muñoz Cánoves**, ICREA Research Professor and Cell Biology Professor at the Department of Experimental and Life Sciences, Pompeu Fabra University, Barcelona, Spain
- **Jacques Tremblay**, Centre de recherche, Centre hospitalier de l'Université de Montréal, (CRCHUM), Montréal, Québec, Canada
- **Joao da Silva Bizario**, AADM/UNAERP Ribeirao Preto, Sao Paolo, Brazil
- **Humberto Cerrel Bazo**, direttore Dipartimento Medicina riabilitativa AUSL Piacenza
- **Adolfo Lopez de Munain Arregui**, Grupo Nerogenética, Hospital Donostia-Unidad Experimental San Sebastian, Espana
- **Kay Davies**, Department of Physiology, Anatomy and Genetics, University of Oxford, Oxford, UK
- **Maurilio Sampaolesi**, Stem Cell Research Institute, University Hospital Gasthuisberg, Leuven, Belgium, Human Anatomy Section, University of Pavia, Pavia, Italy, Interuniversity Institute of Myology (IIM), Italy
- **Gillian Butler-Brown and Vincent Mouly**, Institut de Myologie, Institut national de la sante' et de la recherche me' dicale, and L'Universite' Pierre et Marie Curie Paris, Paris, France
- **Giuseppe Perale**, I.B.I. S/A, Svizzera, Dipartimento di Chimica, Materiali e Ingegneria Chimica "Giulio Natta" Sezione Chimica Fisica Applicata, Politecnico di Milano, Milano
- **Roberto Maggi**, Professore universitario di seconda fascia Fisiologia, Facoltà di Farmacia, Università degli Studi di Milano
- **Mario Pellegrino**, Prof. Associato presso il Dipartimento di Ricerca Traslazionale e delle Nuove Tecnologie in Medicina e Chirurgia, Università di Pisa
- **Daniele Cusi**, Professore di Nefrologia, Università degli Studi di Milano
- **Cristina Barlassina**, Dipartimento di Medicina, Chirurgia e Odontoiatria, Università degli Studi di Milano
- **Anna Spada**, U.O. di Endocrinologia e Diabetologia, Dipartimento di Scienze Mediche, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico
- **Irene Cettin**, Direttore UO Complessa di Ostetricia e Ginecologia, Direttore Centro di Ricerche Fetalì Giorgio Pardi, Università degli Studi di Milano - Polo Universitario Ospedale L.Sacco di Milano
- **Paola Rossi**, Professore universitario per il settore scientifico disciplinare BIOO9 (Fisiologia Generale) presso il Dipartimento di Scienze Fisiologiche e Farmacologiche cellulari e molecolari- Sezione di Fisiologia dell'Università di Pavia.
- **Angelo Poletti**, Biologia Applicata, Università degli Studi di Milano, Facoltà di Farmacia, Università degli 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** Cell Factory Center for Transfusion Medicine, Cell Therapy and Criobiology, Department of Regenerative Medicine, Fondazione IRCCS Cà Granda Ospedale Maggiore Policlinico di Milano
- **Laura Porretti**, referente del Servizio di Citofluorimetria e Core Facility di Citofluorimetria e Cell Sorting del Laboratorio Analisi, Fondazione IRCCS Cà Granda Ospedale Maggiore Policlinico di Milano
- **Agostino Cortelezzi**, direttore UOC Ematologia I e Centro Trapianti Midollo, Fondazione IRCCS Cà Granda Ospedale Maggiore Policlinico
- **Giuseppe D'Antona**, Department of Molecular Medicine, University of Pavia, Pavia, Italy LUSAMMR, Laboratory for Motor Activities in Rare Diseases, Sport Medicine, Centre Voghera, Voghera, Italy
- **Enzo Nisoli**, Center for Study and Research on Obesity, Department of Medical Biotechnology and Translational Medicine, University of Milan, Milan, Italy;
- **Dario Parazzoli**, Imaging Facility IFOM Foundation – The FIRC Institute of Molecular Oncology Foundation, Milan, Italy
- **Stefano Campaner**, Center for Genomic Science of IIT@SEMM; Istituto Italiano di Tecnologia (IIT); Milan, Italy
- **Francesco Nicassio**, Department of Experimental Oncology, European Institute of Oncology, IFOM-IEO Campus
- **Luciano Conti**, Laboratory of Stem Cell Biology, CiBio, Università di Trento
- **Alessandro Quattrone**, Director of CiBio, University of Trento
- **Elena Cattaneo**, Department of Biosciences and Centre for Stem cell Research, Università degli Studi di Milano
- **Giovanna Cantarella**, Dirigente Medico Otorinolaringoiatra e Foniatra, Padiglione Monteggia, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico di Milano
- **Mauro Pluderi e Nadia Grimoldi**, UO Neurochirurgia, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico di Milano
- **Paolo Vezzoni**, Dirigente di Ricerca e Responsabile dell'Unità Operativa di Supporto (UOS) dell'Istituto di Ricerca Genetica e Biomedica (IRGB) del CNR.
- **Marina Bouchè**, Unit of Histology, and IIM, Sapienza University, DAHFMO, Rome, Italy
- **Davide Gabellini**, Dulbecco Telethon Institute and Division of Regenerative Medicine, San Raffaele Scientific Institute, Milan
- **Franco Rustichelli**, Dipartimento di Scienze Cliniche e Odontostomatologiche, Sezione di Biochimica, Biologia e Fisica, Università Politecnica delle Marche, Ancona, Italy
- **Silvia Della Bella**, Lab of Clinical and Experimental Immunology, Humanitas Clinical and Research Center, Rozzano (MI), Italy, Department of Medical Biotechnologies and Translational Medicine, University of Milan, Milan, Italy

- **Aldo Pagano**, Department of Experimental Medicine, University of Genoa, Genoa, Italy, IRCCS Azienda Ospedaliera Universitaria San Martino-IST, Genova, Italy
- **Francesco Meinardi**, Professore di Fisica della Materia, l'Università di Milano Bicocca
- **Jose F Rodriguez-Matas**-, Associate professor, LabS ([www.labsmech.polimi.it](http://www.labsmech.polimi.it)) Chemistry, Materials and Chemical Engineering Department "Giulio Natta" Politecnico di Milano, Italy
- **Giorgio Roberto Merlo**, Dipartimento di Biotecnologie Molecolari e Scienze per la salute-Università di Torino
- **Giorgio Pajardi**, Dipartimento di Scienze Cliniche e di Comunità, Università degli Studi di Milano, Direttore U.O.C. di Chirurgia e Riabilitazione della Mano Ospedale S. Giuseppe Milano, Gruppo MultiMedica IRCCS
- **Dr Yuri D'Alessandra** – Unità di Immunologia e genomica funzionale, Centro Cardiologico Monzino IRCCS, Milan, Italy
- **Prof. Stefano Biressi** – Centro di Biologia Integrata – CIBIO, Università degli Studi di Trento
- **Prof. Lorenzo Bello** - Neurochirurgia Oncologica, Humanitas, Milano
- **Prof. Alberto Priori** - U.O.C. Neurologia, Ospedale San Paolo, Milano
- **Prof. Pietro Mauri** – Istituto di Tecnologie Biomediche, Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR-ITBsila), Milano
- **Prof.ssa M.G. Bruzzone** – UOC Neuroradiologia, Istituto Neurologico Besta, Milan, Italy
- **Prof. Simone Guglielmetti** - Dipartimento di Scienze per gli Alimenti, la Nutrizione e l'Ambiente, Università degli Studi di Milano, Milano
- **Prof. Umberto Galderisi** – Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università degli Studi della Campania "Luigi Vanvitelli"
- **D.ssa Barbara Cassani** – Istituto di Genetica e Biomedicina (IRGB), National Research Council (CNR) Milano
- **Prof. Sabrina Sacconi** – Nice University Hospital, Nice, France

## UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO

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

### Responsabile

**Prof. Dott. Vincenzo Silani**

### U.O. Neurologia-Stroke Unit:

Dott.ssa Laura Adobbati

Dirigente I° Livello – Stroke Unit  
IRCCS Istituto Auxologico Italiano

Dott. Luca Maderna

Dirigente I° Livello - Neurofisiologia  
IRCCS Istituto Auxologico Italiano

Dott. Stefano Messina

Dirigente I° Livello - Neurologia  
IRCCS Istituto Auxologico Italiano

Dott. Andrea Ciammola

Dirigente I° Livello - Neurologia  
IRCCS Istituto Auxologico Italiano

Dott. Barbara Corrà

Dirigente I° Livello – Stroke Unit  
IRCCS Istituto Auxologico Italiano

Prof. Nicola Ticozzi

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

Dott.ssa Claudia Morelli

Dirigente I° Livello - Neurologia  
IRCCS Istituto Auxologico Italiano

Dott. Luca Campana

Neurologo, Contrattista in Convenzione  
IRCCS Istituto Auxologico Italiano

Dott. Riccardo Doronzo

Neurologo, Consulente in Convenzione  
IRCCS Istituto Auxologico Italiano

Dott.ssa Carolina Lombardi

Dirigente I° Livello - Centro Sonno  
IRCCS Istituto Auxologico Italiano

Dott.ssa Paola Mattaliano

Dirigente I° Livello - Centro Sonno  
IRCCS Istituto Auxologico Italiano

Dott. Alberto Doretti

Neurologo, Consulente in Convenzione  
IRCCS Istituto Auxologico Italiano

Dott. Federico Verde

Ricercatore a Tempo Determinato tipo A  
Università degli Studi di Milano  
IRCCS Istituto Auxologico Italiano

Dott. Ignacio Juan Keller Sarmiento

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

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

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

### **Laboratorio Sperimentale di Ricerche di Neuroscienze**

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

### **Rapporti di collaborazione:**

#### **Nazionali:**

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

Studi di Milano

Centro EBRI, Roma

Università degli Studi di Torino

**Internazionali:**

University of Massachussetts Medical  
Landers  
School, Department of Neurology  
Worcester, MA, USA

Università di Ulm, Germania  
Dipartimento di Neurologia

King's College, London  
Dipartimento di Neurologia

Mayo Clinic, Florida, USA  
Department of Neurology

Dipartimento di Neurologia  
Università di St. Gallen, Svizzera

Max Planck Institute,  
Leipzig, Germania

Department of Neurology  
New York – USA

Department of Neurology  
Eleanor and Lou Gehrig MDA/ALS  
Research Center  
Columbia University Medical Center  
New York - USA

Neuromuscular Division Neurology  
Massachusetts General Hospital  
Boston - USA

Department of Neurology  
Methodist Neurological Institute Chair  
Houston -USA

Euan Mac Donald Centre for Motor  
Neurone Disease Research  
University of Edinburgh - UK

Dott. Marco Feligioni

Prof. Adriano Chiò, Prof. Andrea Calvo

Prof. Robert H. Brown, Prof. John

Dott.ssa Claudia Fallini

Prof. Albert Ludolph, Prof. Markus Otto

Prof. Ammar Al-Chalabi  
Prof. Christopher Shaw  
Prof. John Powell

Prof. Leonard Petrucelli

Prof. Markus Weber

Dott. Damian Wollny

Prof. Dale J. Lange

Prof. Hiroshi Mitsumoto

Prof. Merit E. Cudkowicz

Prof. Stanley H. Appel

Prof. Sharon Abrahams

La Sede Distaccata del Centro "Dino Ferrari" presso la U.O. di Neurologia-Stroke Unit e Laboratorio di Neuroscienze dell' Università degli Studi di Milano presso l' IRCCS Istituto Auxologico Italiano ha prodotto nel 2020 un rilevante numero di contributi scientifici principalmente volti a definire i meccanismi patogenetici delle patologie neurodegenerative e cerebrovascolari, con attenzione alla traslazione tra clinica e laboratorio. Ha dimostrato inoltre interesse per una nuova area della neurologia in rapporto alla pandemia da COVID-19. Tradizionalmente 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 mediante Centri dedicati alla valutazione clinica e strumentale con complementare raccolta di biomarcatori per l'elaborazione di innovative strategie terapeutiche.

Con la pandemia COVID-19 si è acceso un nuovo interesse per le complicanze neurologiche con un lavoro volto all' apprestamento di un protocollo nazionale di raccolta degli effetti del virus sia nel sistema Nervoso Centrale che Periferico sotto egida della Società Italiana di Neurologia (SIN).

Parallelamente all' attività clinica e di ricerca, è proseguita la formazione di giovani medici, MD/PhD, biologi/biotecnologi che si sono anche prestati per l' assistenza legata alle nuove esigenze della pandemia COVID-19.

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 che hanno permesso di seguire i Pazienti anche da remoto. L'IRCCS Istituto Auxologico Italiano, partecipa degli ERN Europei con riferimento alla patologia motoneuronale e neuromuscolare (ERN-MND), si è preparato a fornire in rete consulenze specifiche per casi particolarmente complessi. Il Centro SLA dell' IRCCS Istituto Auxologico Italiano continua anche a far parte del Northeast ALS Consortium (USA), dell' ENCALs, MinE, TRICALs ed ha aderito all'Italian Frontotemporal Dementia Network (FTD Group – SINDEM).

Nel 2020 è proseguita l' intensa attività del Servizio di Neurofisiologia coordinato dal Dott. Luca Maderna, con studio Doppler del nervo periferico integrato all' EMG/ENG classico, con ulteriore definizione di una moderna tecnica per la determinazione del numero di motoneuroni fisiologicamente attivi (MUNE) e con studio della patologia nel sonno, mediante proficua interazione con la U.O. di Cardiologia diretta dal Prof. Gianfranco Parati. Si è aggiunta l' elettroceutica per la stimolazione della corteccia motoria nella patologia motoneuronale.

Nel 2020 è stato ulteriormente sviluppato il Servizio di Neuropsicologia e Psicologia Clinica coordinato dalla Dott.ssa Barbara Poletti, dove a fianco all' attività clinica rivolta allo screening, alla diagnosi differenziale ed alla riabilitazione dell'impairment cognitivo e delle Demenze, nonché del sostegno psicologico ai pazienti affetti da patologia neurodegenerativa e dei loro caregiver, si sono ulteriormente approfondite alcune linee di ricerca che hanno visto la messa a punto e l'implementazione di innovativi test cognitivi indaganti in particolare le alterazioni frontali nei pazienti affetti da SLA tramite innovative metodiche atte a by-passare le limitazioni verbo-motorie che caratterizzano la suddetta patologia, quale l'Eye Tracking (ET) che si è dimostrato di grande utilità in epoca COVID-19. Inoltre, è stato ulteriormente sviluppato l'impiego, nella valutazione longitudinale dei pazienti SLA, della versione italiana dell'Edinburgh Cognitive and Behavioural ALS Screen (ECAS). Sono stati poi implementati percorsi multidisciplinari per la valutazione ed il trattamento sia della cefalea che dell'insonnia, quest'ultima in collaborazione con il Centro di Medicina del Sonno, diretto dalla Dott.ssa. Carolina Lombardi. La formazione di équipe multidisciplinari è stata perseguita ed è tutt'ora oggetto di sviluppo per diverse patologie al fine di implementare i percorsi di diagnosi e cura delle stesse. Infine sono stati sviluppati studi di ricerca dei pazienti affetti da patologia neurodegenerativa mediante l'utilizzo della RM 3 Tesla.



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

Nel 2020, inoltre, il Centro “Dino Ferrari” ha mantenuto la funzione direttiva nell’ambito dell’European ALS Consortium (ENCALS), organizzazione Europea dedicata allo sviluppo delle problematiche inerenti le malattie del motoneurone: il Prof. Silani è stato riconfermato co-chairman del l’EAN Subspeciality Scientific panel ALS and Frontotemporal Dementia (Dicembre 2019 -).

La migliore espressione dell’attività svolta dalla Sede Distaccata del Centro “Dino Ferrari” sta nell’ulteriore consenso internazionale raggiunto nel 2020 anche per ricercatori (no. 2) che stanno svolgendo o hanno completato periodi formativi in qualificati Laboratori in Europa o nel Nord-America con cui il Centro “Dino Ferrari” ha scambi collaborativi di elevato livello. In particolare, la Dr.ssa Isabella Fogh continua ad occuparsi dello studio di geni modificatori regolanti la SLA sporadica. Dal 2019 ha studiato una popolazione europea di pazienti sporadici SLA portatori dell’espansione patologica G4C2 nel gene C9orf72. In collaborazione con il Professor Chris Shaw presso il Dipartimento di Clinical e Basic Neuroscience al King’s College London, ha analizzato dati genotipici di tutto il genoma (GWAS) in un gran numero di pazienti Europei e nord Americani raccolti da consortia internazionali quali SLAGEN, ALSGEN e Project MinE.

L’IRCCS Istituto Auxologico Italiano è entrato a fare parte della Rete Italiana dei NeuroIRCCS ed il Prof. V. Silani ha spesso coadiuvato il Direttore Scientifico Prof. Gianfranco Parati nella esplicazione dei diversi compiti istituzionali, rappresentando l’IRCCS in diverse occasioni. E’ infatti Referente istituzionale nella Rete dei NeuroIRCCS per delibera istituzionale. Nell’ambito dei NeuroIRCCS è stata guadagnato il riconoscimento in due istituti virtuali (Demenze e Malattia di Parkinson) di cui il Prof. Silani è riconosciuto nel Consiglio Direttivo oltre la collaborazione a due piattaforme (genetica e proteomica) nell’ambito della stessa Rete dei NeuroIRCCS.

Il Prof. Vincenzo Silani è parte all’editorial Board di European Neurology, ALS/FTD, American Journal of Neurodegenerative Diseases e di Annals of Transplantation Research, è stato nominato Fellow della American Academy of Neurology (FAAN) oltre che essere già Fellow della European Academy of Neurology (FEAN). È Esaminatore per l’European Board of Neurology dell’U.E.M.S.

## **PRINCIPALI ARGOMENTI DI RICERCA**

### ***ELABORAZIONE DI CRITERI DIAGNOSTICI ed IDENTIFICAZIONE di BIOMARCATORI NELLA SCLEROSI LATERALE PRIMARIA (PLS)***

La sede distaccata del Centro ha fornito un contributo alla stesura della nuova versione dei criteri diagnostici della sclerosi laterale primaria (PLS). Tale contributo è stato fornito nella persona del Professor V. Silani che ha fatto parte del comitato internazionale di esperti di PLS riunitosi ad hoc a Philadelphia (Pennsylvania, USA) il 3 maggio 2019 e che ha redatto il documento di orientamento clinico. Con ciò è stato riconosciuto il ruolo storicamente svolto dal nostro Centro nello studio di questa rara forma neurodegenerativa. A seguire l'analisi dei potenziali geni coinvolti in una review in pubblicazione (Silani et al., 2020) e l'avvio della ricerca di biomarcatori sierici/liquorali.

Rilevante è la trattazione, nell'ambito del nuovo documento di consenso, di nuove metodiche di indagine nella malattia (con riferimento al neuroimaging ed alla neurofisiologia), alle quali, seppur non ancora incluse nei criteri diagnostici, viene riconosciuto un ruolo di crescente rilevanza.

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

In questo studio, pubblicato nel 2020 sulla rivista *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, sono stati analizzati i livelli liquorali dei due biomarcatori catena pesante fosforilata dei neurofilamenti (pNFH) e chitotriosidasi (Chit1) in 10 pazienti con sclerosi laterale primaria (PLS), rara forma di malattia del motoneurone coinvolgente pressoché esclusivamente il primo motoneurone, 28 pazienti con SLA e 30 pazienti neurologici privi di malattie neurodegenerative o malattie infiammatorie del sistema nervoso centrale. pNFH è un biomarcatore di degenerazione assonale mentre Chit1 è un marcatore di attivazione microgliale, processo rilevante nella eziopatogenesi della malattia. Entrambe le molecole sono notoriamente aumentate nel liquor dei pazienti con SLA, ma il loro ruolo come biomarcatori della PLS è poco noto. Nel nostro studio, oltre a confermare livelli liquorali elevati dei due biomarcatori nella SLA in confronto ai controlli, abbiamo dimostrato livelli intermedi di entrambe le molecole nella PLS (che presenta quindi livelli di entrambi i biomarcatori più bassi che nella SLA ma più alti che nei controlli). Questo fa sì che, da una parte, pNFH e Chit1 possano avere un ruolo per la discriminazione tra la PLS e condizioni di assenza di malattie neurodegenerative, dall'altra, in maniera più interessante, pNFH e Chit1 possano essere utilizzati per la diagnosi differenziale tra PLS e SLA, ambito particolarmente rilevante data la difficoltà di distinguere tra le due patologie soprattutto in fase iniziale. In particolare pNFH presenta per la distinzione tra PLS e SLA un'area sotto la curva di 0.771 con una sensibilità del 67.9% e una specificità del 90.0%. Una efficace distinzione diagnostica precoce tra PLS e SLA sarebbe di fondamentale importanza in quanto implicherebbe una diversa prognosi per il paziente, permetterebbe di iniziare fin da subito terapie specifiche e consentirebbe di arruolare i pazienti con PLS in trial terapeutici sperimentali in una fase della malattia in cui tali trattamenti potrebbero avere maggiori possibilità di successo.

### ***PROFILO DI SPETTROSCOPIA RAMAN SULLA SALIVA COME BIOMARCATORE DIAGNOSTICO DELLA SCLEROSI LATERALE AMIOTROFICA (SLA)***

In questo studio, condotto in collaborazione con il laboratorio di proteomica dell'IRCCS Istituto Don Gnocchi, è stata utilizzata la metodica di spettroscopia Raman per analizzare la saliva di pazienti con sclerosi laterale amiotrofica (SLA). In particolare, 19 pazienti con SLA sono stati confrontati con 10 pazienti con malattia di Parkinson, 10 con decadimento cognitivo da probabile malattia di Alzheimer e 10 controlli privi di malattie neurodegenerative. Il profilo spettroscopico della saliva dei pazienti con SLA ha mostrato

differenze rispetto alle altre categorie diagnostiche, che consentono di risalire dal pattern Raman alla diagnosi con una certa affidabilità. Tali differenze riflettono presumibilmente una diversa composizione biochimica della saliva connessa con il processo patologico che contempla anche la degenerazione di strutture nervose e muscolari situate in stretta vicinanza della saliva. Il prelievo di saliva è stato effettuato nei pazienti e nei controlli in condizioni strettamente standardizzate. Data la non invasività e semplicità del prelievo di saliva, i risultati di questo studio preliminare sono promettenti ai fini della potenziale introduzione di un metodo di indagine di laboratorio a supporto della diagnosi della SLA. Lo studio è stato pubblicato sulla rivista *Scientific Reports*.

### ***STUDIO NeuroCOVID***

È stato apprestato un registro nazionale con San Marino per la raccolta dei casi di NeuroCOVID-19 raccolti nella penisola, sotto patrocinio della Società Italiana di Neurologia (SIN). Gli Specializzandi in Neurologia della Scuola di Specializzazione dell' università di Milano hanno largamente contribuito alla raccolta dei casi immettendoli nel database nazionale e segnalando il NeuroCOVID in una recente pubblicazione in cui sono ipotizzati anche i meccanismi patogenetici dell' interessamento neurologico (Calcagno et al., *Neurol Sci*, 2020, Ferrarese et al., *Neurol Sci*, 2020). Uno studio controllato sull' iposmia è stato avviato e concluso analogamente alla definizione dei livelli sierici di Neurofilamento.

### ***STUDIO DI BIOMARCATORI SIERICI DI DANNO ASSONALE E DI DANNO/ATTIVAZIONE ASTROCITARIA IN PAZIENTI AFFETTI DA COVID-19***

Nel corso del 2020 il nostro Istituto è stato direttamente coinvolto nella attività clinica volta a fronteggiare l'epidemia di Covid-19 che ha colpito precocemente e duramente il nostro Paese e in particolare la nostra Regione. Fin dalle prime fasi della pandemia è emersa la possibilità che in alcuni casi il virus SARS-CoV-2 penetrasse nel sistema nervoso e determinasse quadri di patologia neurologica di varia natura e gravità, eventualmente mediati da abnormi reazioni del sistema immunitario. E' stato quindi progettato, analogamente a quanto fatto precocemente da altri centri europei, uno studio dedicato alla misurazione su sangue periferico (siero) dei pazienti con Covid-19 di due biomarcatori neurologici, in particolare la catena leggera del neurofilamento (NFL) e la proteina gliale fibrillare acida (GFAP). Queste molecole sono rispettivamente un biomarcatore di danno assonale e un biomarcatore di danno e/o attivazione astrocitaria. Si intende così verificare se pazienti con Covid-19 privi di precedenti malattie neurologiche, e che abbiano o non abbiano manifestato nel corso della infezione sintomi neurologici, presentino livelli aumentati di uno o entrambi i biomarcatori in confronto a controlli non colpiti da Covid-19 e anch'essi privi di precedente patologia neurologica. Lo studio prevede l'analisi di circa 35 pazienti con Covid-19 e di altrettanti controlli. I pazienti sono stati reclutati tra i pazienti ricoverati nei reparti Covid allestiti nel nostro Istituto durante la prima ondata di Covid-19 (marzo-maggio 2020). È stata infatti allestita una ampia sieroteca dalla quale sono stati selezionati i campioni di interesse. I controlli sono stati invece reclutati prevalentemente tra i sanitari del nostro Istituto, tra l'altro regolarmente sottoposti a tamponi nasofaringei molecolari per escludere la infezione da SARS-CoV-2. Sono state compiute le fasi di raccolta e selezione dei campioni.

### ***APPROCCI INNOVATIVI PER L'IDENTIFICAZIONE E LA VALIDAZIONE DI BIOMARCATORI NELL'AMBITO DELLE MALATTIE NEURODEGENERATIVE***

Questo progetto multicentrico in corso nel 2020, che fa riferimento alla rete RIN degli IRCCS di Neuroscienze e Neuroriabilitazione, ha l'obiettivo di elaborare nuove metodiche di indagine per lo studio dei biomarcatori nelle malattie neurodegenerative. In particolare il progetto è incentrato sullo studio delle vescicole extracellulari (principalmente esosomi) come fonte di biomarcatori diagnostici nelle demenze degenerative (malattia di Alzheimer, degenerazione frontotemporale, demenza con corpi di Lewy), nella malattia di Parkinson e

nella sclerosi laterale amiotrofica (SLA). Vengono confrontate diverse metodiche e condizioni di isolamento delle vescicole extracellulari (ultracentrifugazione, utilizzo di kit commerciali per l'isolamento). Le vescicole vengono isolate sia da liquor sia da plasma. Le vescicole ottenute vengono utilizzate per la misurazione di biomarcatori delle patologie neurodegenerative (in particolare frammenti amiloidi beta 1-42 e 1-40, proteina tau, catena leggera del neurofilamento (NFL), alfa-sinucleina) e tali misurazioni vengono raffrontate con quelle effettuate direttamente su liquor e plasma, allo scopo di verificare se la misurazione nelle vescicole fornisca dei vantaggi in termini diagnostici (differenziazione dei pazienti affetti da malattie neurodegenerative da controlli e distinzione tra le diverse malattie neurodegenerative) rispetto alla misurazione diretta sui liquidi biologici. Nella parte del progetto svolta nel 2020 l'attività si è concentrata sulle metodiche di isolamento delle vescicole al fine di elaborare protocolli condivisi dai laboratori membri della rete RIN. Sono in programma per la fase successiva del progetto saggi di misurazione dei biomarcatori sulle vescicole e sui liquidi biologici.

#### ***APPLICAZIONE DEL NEXT-GENERATION SEQUENCING PER ANALISI GENETICA IN UNA AMPIA COORTE DI PAZIENTI ITALIANI CON CANALOPATIE MUSCOLARI***

L'UO ha contribuito alla realizzazione di uno studio multicentrico dedicato alla caratterizzazione genetica di una ampia coorte di pazienti italiani affetti da canalopatie muscolari, ovvero miotonie non distrofiche e paralisi periodiche. E' stato elaborato un pannello di next-generation sequencing contenente 56 geni codificanti proteine coinvolte in eccitabilità di membrana, accoppiamento eccitazione-contrazione e metabolismo delle fibre muscolari. La coorte comprendeva 109 pazienti. Sono stati individuati 24 pazienti con mutazioni nei geni *CLCN1*, *SCN4A*, *ATP2A1*, *KCNA1* e *CASQ1*. 8 mutazioni riscontrate sono nuove (p.G395Cfs\*32, p.L843P, p.V829M, p.E258E e c.1471+4delTCAAGAC in *CLCN1*, p.K1302R in *SCN4A*, p.L208P in *ATP2A1* e c.280-1G>C in *CASQ1*). Lo studio, pubblicato sulla rivista *Neuromuscular Disorders*, evidenzia l'utilità dell'applicazione di tecniche di next-generation sequencing per la diagnosi di malattie muscolari con base genetica.

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

Nel corso del 2020, il Centro ha proseguito la fruttuosa collaborazione internazionale finalizzata al sequenziamento dell'esoma/genoma di pazienti affetti da SLA (FALS Sequencing Consortium), al fine di identificare varianti rare associate alla suscettibilità per la malattia, utilizzando diverse strategie di analisi (*rare-variant burden analysis*, RVB; analisi manuale delle varianti identificate mediante NGS; mappatura di autozigosi). La coorte di pazienti raggiungendo una casistica di circa 2000 pazienti affetti da SLA familiare e sporadica. Tale approccio ha prodotto i seguenti risultati:

##### **a) Studio dei geni SMN1 e SMN2 quali fattori di suscettibilità nella SLA.**

Il ruolo dei geni SMN1 e SMN2 nella patogenesi della SLA sporadica è stato ampiamente dibattuto in letteratura, con conclusioni a volte discordanti. Nell'ambito del Progetto MinE è stato quindi condotto uno studio di associazione su 6.375 genomi di pazienti SLA vs 2.412 controlli sani; non è stata osservata un'associazione tra il numero di copie di SMN1 e SMN2 con la suscettibilità o la gravità della malattia, suggerendo quindi che terapie mirate ad aumentare l'espressione di questi geni non hanno verosimilmente un razionale nella SLA (Moisse et al., Ann Neurol 2021).

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

Mediante screening NGS di un trio composto da un paziente affetto da SLA giovanile e dai genitori non affetti, è stato possibile identificare una nuova variante missenso nel gene *ABC* (nome fittizio), codificante per un enzima coinvolto nella sintesi degli sfingolipidi. La stessa mutazione è stata successivamente osservata in un altro caso di SLA giovanile non imparentato, rafforzandone così il possibile ruolo patogenetico. Lo screening di una coorte di controllo composta da >5.000 pazienti affetti da SLA familiare e sporadica (di cui >1.100 raccolti dal FALS Sequencing Consortium) ha consentito di identificare altre 19 mutazioni di *ABC* in altrettanti pazienti affetti da SLA. Studi funzionali hanno dimostrato come la proteina mutante abbia ridotta attività enzimatica, con conseguente formazione di metaboliti intermedi tossici; tali molecole sono state osservate anche nel siero dei pazienti portatori delle mutazioni in *ABC*. E' di particolare rilievo l'osservazione che il trattamento con il coenzima di *ABC* sia in grado di determinare una reversione del fenotipo in modelli cellulari. Nel corso del 2020 è stato prodotto un manoscritto attualmente in fase di revisione da parte di JAMA Neurology.

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

Le recenti scoperte genetiche a cui il Centro ha in larga parte contribuito negli ultimi anni, hanno consentito di ottenere una migliore caratterizzazione genotipo-fenotipo nella SLA e di comprenderne le possibili sovrapposizioni con altre patologie neurodegenerative. A tal fine, il Laboratorio di Neuroscienze ha ottimizzato un pannello genetico NGS su piattaforma Illumina per la diagnostica molecolare di SLA e altre malattie del motoneurone, demenze degenerative, parkinsonismi e patologie cerebrovascolari. La composizione di questo pannello NGS è in continuo aggiornamento e in fase di ottimizzazione nell'ambito della piattaforma di genetica della Rete IRCCS delle Neuroscienze e della Neuroriabilitazione (RIN). Nel corso del 2020 sono stati analizzati circa 200 pazienti affetti da patologie neurodegenerative.

***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*, in un grosso studio GWA condotto in collaborazione su >15.000 casi SLA e >25.000 controlli (van Rheenen et al 2016).

L'identificazione di questi due fattori di rischio è di particolare interesse in quanto essi sembrano essere coinvolti in un medesimo pathway cellulare, convergendo entrambi nei meccanismi di riparazione del danno al DNA e rinforzando così il dato genetico quali fattori di suscettibilità. Tuttavia poiché un solo lavoro dimostra l'interazione tra *NEK1*, una chinasi coinvolta nei primi step di riparazione del DNA, e la proteina *C21orf2*, obiettivo del presente progetto è quello di indagare a livello funzionale l'impatto delle varianti genetiche identificate nei pazienti SLA sull'efficacia di riparo del danno al DNA. In particolare, sono state studiate le due varianti più frequenti, *NEK1* p.R261H e *C21orf2* p.V58L, in un paradigma sperimentale di danno al DNA indotto con l'agente radiomimetico neocarzinostatina (NCS). Dopo generazione dei costrutti wild-type e mutanti per entrambi i geni e over-espressione in cellule U2OS, sono state valutate sia la distribuzione sub-cellulare dei due mutanti in condizioni normali ed in seguito ad induzione del danno, sia la capacità di recovery del danno al DNA nel tempo. I nostri dati preliminari indicano che le proteine ricombinanti mutate mostrano una distribuzione diversa in seguito a danno rispetto alle proteine wild-type e, in

particolare, la proteina NEK p.R261H mostra una ridotta capacità di riparazione del danno al DNA, valutata quantitativamente con il marcatore istonico  $\gamma$ H2A.

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

### ***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 saranno successivamente filtrate in modo tale da individuare quelle che ricorrono più frequentemente nei casi e sono assenti nella popolazione di controllo. Infine, i pazienti selezionati saranno sottoposti a sequenziamento del genoma al fine di evidenziare la presenza di mutazioni patogenetiche in omozigosi nelle regioni di autozigosità precedentemente individuate. Nel corso del 2020 sono stati selezionati e fenotipizzati 43 pazienti SLA progenie di matrimonio tra consanguinei; è attualmente in corso l'analisi di autozigosità.

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

Nel corso del 2020, è proseguito l'utilizzo delle iPSCs come modello di studio nelle malattie neurodegenerative in particolare nella Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA) e nella Demenza Frontotemporale (FTD). All'inizio dell'anno, è stato pubblicato lo studio comparativo di iPSCs riprogrammate da sangue periferico e da fibroblasti dello stesso paziente portatore di una espansione C9orf72 (Bardelli D et al., J Cell Mol Med. 2020 Apr;24(7):4051-4060). È inoltre proseguita la collaborazione con il Max Planck Institute Leipzig (Germany) dove sono stati generati organoidi da due linee iPSCs da pazienti mutati per C9orf72 e da un controllo, fornite dal nostro laboratorio. Lo studio di questi organoidi, modello 3D e quindi più rappresentativo di una condizione fisiologica, consentirà di verificare eventuali differenze qualitative/quantitative nella composizione dei diversi tipi cellulari tra pazienti e controlli.

Nell'ambito della nostra attività di ricerca si stanno inoltre ottimizzando protocolli di differenziamento cellulare in senso astrocitario, neuronale ed oligodendrocitario a partire da un comune precursore. Una volta messi a punto questi protocolli, sarà possibile analizzare le diverse popolazioni coinvolte nell'ambito neuronale ed identificare difetti o alterazioni sia a carico del singolo sottotipo che in seguito a coculture, in grado di ricreare un ambiente più fedele all'ambito fisio-patologico. Parallelamente, un nuovo filone della nostra attività di ricerca riguarda un progetto che prevede di studiare il ruolo della mutazione nel gene C9orf72 nel causare due patologie agli estremi di un continuum patofisiologico, la SLA e la FTD. È infatti noto come la medesima espansione di una sequenza esanucleotidica nel gene C9orf72 possa portare a due fenotipi patologici diversi. Il nostro scopo è quello di identificare in pazienti portatori della mutazione se vi sia una particolare predisposizione a sviluppare l'una o l'altra patologia, dovuta a difetti intrinseci di una determinata popolazione neuronale.

Questo si potrà ottenere mediante lo studio di neuroni corticali (prevalentemente colpiti nella FTD) e motoneuroni (prevalentemente colpiti nella SLA) ottenuti dal medesimo soggetto che saranno analizzati per caratteristiche morfologiche e funzionali, allo scopo di individuare particolari fragilità o difetti in una o l'altra popolazione, responsabile quindi della comparsa dell'una o l'altra patologia.

Proseguono inoltre le collaborazioni in atto con diversi gruppi. Con l'Istituto di Farmacologia dell'Università di Milano si è concluso lo studio che prevedeva di testare una miscela in grado di modulare il differenziamento e la crescita cellulare su due linee di iPSCs da donatori sani e motoneuroni derivanti ed il lavoro è stato pubblicato (Complete neural stem cell (NSC) neuronal differentiation requires a branched chain amino acids-induced persistent metabolic shift towards energy metabolism. Bifari F et al., Pharmacol Res. 2020 Aug;158:104863.). In merito a due collaborazioni con l'Istituto C. Besta ed il Laboratorio di Citogenetica dell'Istituto Auxologico, sono state riprogrammate cellule da sangue periferico di pazienti affetti da FTD e Smith-Magenis ed in entrambi i casi sono stati differenziati neuroni corticali. La caratterizzazione dei neuroni ottenuti è in corso allo scopo di studiare alcuni meccanismi sottostanti le patologie.

***GENOMIC INSTABILITY OF EXPANDED REPEATS IN HD AND ALS/FTD(Progetto Repetomics, E-Rare-3 Call JTC 2018 – P.I. Prof. Vincenzo Silani).***

L'obiettivo di questo progetto europeo è lo studio e la caratterizzazione della instabilità genomica associata alle patologie da espansione di sequenze ripetute, quali SLA/FTD con il gene C9orf72 e la malattia di Huntington, per spiegare il fenomeno dell'anticipazione genetica nelle famiglie e l'elevato grado di mosaicismismo somatico. In particolare l'obiettivo è indagare l'instabilità genomica nel sistema nervoso centrale e nelle sue diverse aree poiché è stato osservato che il cervelletto va incontro a maggiori espansioni del gene C9orf72 rispetto ad altre aree cerebrali. Risultati analoghi di instabilità genomica del tratto CAG, anche se più contenuta, si verificano anche nel cervello di pazienti HD.

A tale scopo abbiamo generato e caratterizzato diverse linee di cellule iPSC ottenute da pazienti SLA/FTD con mutazioni nel gene C9orf72 al fine di studiarne l'instabilità sia in coltura che durante la formazione di organoidi cerebrali. Quest'anno abbiamo generato 3 nuove linee iPSC C9orf72 da fibroblasti di pazienti SLA appartenenti alla stessa famiglia e portatori di un diverso numero di espansioni. Un clone per ogni linea è stato caratterizzato per la sua pluripotenza e capacità di differenziare nei tre foglietti embrionali. L'analisi citogenetica ha anche escluso grossi riarrangiamenti cromosomici. Tali linee sono ora in espansione e verranno utilizzate per generare organoidi e comparare il livello di instabilità genomica di C9orf72 durante il differenziamento in parallelo a studi di espressione genica negli stessi membri della famiglia. In esperimenti preliminari di messa a punto del protocollo per la generazione degli organoidi abbiamo utilizzato due diverse linee iPSC C9orf72 già presenti in laboratorio e una linea iPSC di controllo sana (vedi sopra). Altro obiettivo del progetto, necessario per lo studio dell'instabilità genomica, è la messa a punto di un metodo analitico-diagnostico per la determinazione dell'entità dell'espansione nel caso del gene C9orf72 dove le ripetizioni possono raggiungere fino a 4000 unità di espansione. I saggi diagnostici attualmente utilizzati infatti non permettono di definire in modo preciso l'entità dell'espansione per cui è difficile studiare la correlazione genotipo-fenotipo nei pazienti C9orf72. In collaborazione con il Dott. George Hasse (Parigi) abbiamo utilizzato la tecnologia di optical mapping di Bionano Genomics per l'analisi di grandi sequenze di DNA. Dati preliminari sia su DNA genomico da sangue che da cellule iPS hanno mostrato la potenzialità di questo approccio nel definire l'entità dell'espansione con una certa precisione e risoluzione rispetto al Southern blot nonché il grado di mosaicismismo somatico, soprattutto nel sangue. Verranno analizzati con questa tecnica altri campioni di sangue e di iPSC mutati C9orf72 e anche gli organoidi che saranno generati a diversi stadi di sviluppo. Ciò permetterà quindi di

studiare e caratterizzare meglio l'instabilità genomica legata al gene C9orf72 in diversi paradigmi sperimentali.

**MECCANISMI PATOGENICI DI SLA: GRANULI DA STRESS e RISPOSTA ALLO STRESS OSSIDATIVO IN FIBROBLASTI E IN MOTONEURONI DIFFERENZIATI DA CELLULE iPSC DI PAZIENTI SLA** (*Progetto TRANSALS, finanziato da Fondazione Regionale per la Ricerca Biomedica, Regione Lombardia - Prof. V. Silani e Prof.ssa Antonia Ratti*)

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

A tal scopo, abbiamo ottimizzato in vitro una condizione di stress cronico prolungato mediante esposizione a sodio arsenite utilizzando colture primarie di fibroblasti disponibili nella nostra Biobanca e comprendenti 3 diverse linee di fibroblasti SLA con mutazione nel gene TARDPB (p.A382T), 3 con mutazione nel gene C9orf72 e 3 linee derivate da individui sani di controllo. È stato osservato che in seguito a trattamento cronico con sodio arsenite (15µM per 30 ore) sia i fibroblasti controllo che i fibroblasti mutati formano stress granules, in cui viene reclutata la proteina TDP-43, e aggregati distinti di TDP-43 fosforilata (P-TDP-43) molto simili agli aggregati patologici osservati nei tessuti autoptici dei pazienti SLA/FTD. In condizioni di stress cronico, è stata anche osservata una disregolazione dell'autofagia con aumento dei marcatori autofagici p62 e LC3 con un aumentato numero di vacuoli autofagici e la formazione di aggregati p62 positivi. Da un'analisi quantitativa sono emerse differenze sia nel numero di cellule che formano stress granules tra fibroblasti di controlli sani e fibroblasti di pazienti SLA mutati, suggerendo uno specifico contributo genetico alla risposta allo stress cellulare, sia nella dimensione degli stress granules formati in condizione di stress cronico rispetto a condizioni di stress acuto, suggerendo una differente composizione di questi foci citoplasmatici in queste due condizioni di stress.

Dopo rimozione dell'arsenite il recupero dallo stress cronico era completo per granuli da stress e aggregati di P-TDP-43 a 72 ore, mentre la p62 era ridotta ma persistente, supportando l'ipotesi che un'alterazione dell'autofagia possa determinare la formazione di aggregati patologici.

Essendo i motoneuroni le cellule che degenerano nella SLA, abbiamo quindi esteso i nostri studi su cellule motoneuronali umane che abbiamo differenziato, con un apposito protocollo di differenziamento motoneuronale, da cellule iPS (iPS-MN) ottenute nel nostro laboratorio in seguito a riprogrammazione di fibroblasti da controlli e da pazienti SLA. Abbiamo quindi riprodotto le condizioni di insulto ossidativo cronico ottimizzando le condizioni di trattamento su questo modello. La dose di ARS 10uM per 24 ore si è rivelata la condizione cronica ottimale in termini di formazione di Stress granules nelle iPS-MN. Come nei fibroblasti, in condizioni di stress cronico, anche nelle iPS-MN la proteina TDP-43 co-localizzava con i granuli da stress ed è stata osservata la formazione di aggregati di proteina TDP-43 fosforilata, distinti dagli Stress granules, e la disregolazione dell'autofagia con aumento della proteina p62. Le differenze gene-specifiche osservate nei fibroblasti in risposta allo stress



ossidativo cronico non sono state invece osservate nelle iPSC-MN, che hanno mostrato una simile formazione di granuli da stress e aggregati di P-TDP-43 indipendentemente dal loro genotipo.

Nelle nostre condizioni sperimentali di stress ossidativo prolungato, abbiamo osservato che i fibroblasti dei pazienti mutati in *C9ORF72* formavano più aggregati di P-TDP-43 rispetto agli stress granules, mentre una risposta opposta è stata osservata nei fibroblasti controllo e *TARDBP*. Nelle iPSC-MN invece abbiamo osservato una situazione differente, essendo gli aggregati più abbondanti degli stress granules in tutti i gruppi di pazienti. I nostri risultati quindi suggeriscono che nelle cellule derivate da pazienti SLA le inclusioni della proteina TDP-43 possono derivare in condizioni di stress prolungato sia da un meccanismo stress granules- dipendente che indipendente e che questo pathway è fortemente influenzato dal background genetico del paziente e differente in cellule non neuronali verso cellule neuronali. Questi dati sono stati oggetto di pubblicazione sulla rivista internazionale *Neurobiology of Disease* a Novembre 2020.

Con questo studio abbiamo inoltre ottenuto un nuovo modello malattia di aggregazione di TDP-43 fosforilata, che rappresenta un prezioso bioassay per lo studio della patologia TDP-43 e per lo sviluppo di strategie terapeutiche mirate alla disaggregazione e/o alla inibizione della formazione delle inclusioni patologiche di TDP-43 tipiche della SLA/FTD.

***STUDIO DELLA METILAZIONE DEL GENE C9ORF72 COME FATTORE MODIFICATORE DEL FENOTIPO CLINICO e DEI MARCATORI NEUROPATOLOGICI IN MODELLI CELLULARI SLA/FTD (Progetto Ministero della Salute, Ricerca Finalizzata - Prof. V. Silani)***

Alcuni dati di letteratura indicano che la metilazione del promotore del gene *C9orf72*, diminuendo la trascrizione dell'RNA mutato, possa essere neuroprotettiva in caso di presenza dell'espansione patologica. Dopo aver confermato che anche nella nostra coorte di pazienti SLA la metilazione è presente in circa il 30% dei pazienti mutati *C9orf72* ma non negli altri pazienti SLA, abbiamo esteso i nostri studi anche a cellule iPSC derivate dai pazienti stessi. Le iPSC sono, infatti, molto utilizzate per studiare i meccanismi patogenetici nella SLA e, in particolare per il gene *C9orf72*, anche per testare possibili approcci terapeutici (oligonucleotidi antisenso, molecole) in grado di bloccare la tossicità degli RNA *C9orf72* espansi e ridurre la formazione dei foci di RNA patologici. Tuttavia i modelli sperimentali iPSC-C9 sono molto diversi tra loro a causa della diversa espansione patologica tipica di ciascun paziente e non sono ad oggi noti gli effetti della metilazione del promotore di *C9orf72* in queste cellule.

Per indagare se la modificazione epigenetica di *C9orf72* può agire da fattore modificatore nella patologia associata alle mutazioni nel gene, abbiamo studiato sia la metilazione del promotore genico che la metilazione della stessa sequenza esanucleotidica G4C2 ripetuta che forma siti CpG quando è espansa. Abbiamo poi valutato l'effetto della metilazione sull'espressione genica delle tre isoforme del gene *C9orf72* e sulla formazione dei foci di RNA.

Il nostro studio è stato condotto su un totale di 8 linee iPSC mutate *C9orf72*, di cui 3 erano già state precedentemente riprogrammate nel nostro laboratorio. L'analisi di metilazione ha mostrato che 4 linee iPSC hanno il promotore del gene *C9orf72* espanso metilato e 4 no, mentre la sequenza ripetuta espansa è metilata in tutti i casi, confermando i dati di letteratura riportati su sangue. Mentre l'analisi di espressione genica indica, sebbene con un'alta variabilità inter-paziente, che le isoforme V1 e V3, che danno origine all'RNA patologico, sono diminuite nelle cellule iPSC-C9 metilate rispetto alle non metilate, come atteso, la formazione di foci di RNA patologici, definita mediante analisi di FISH, non ha mostrato alcuna correlazione con lo stato epigenetico del promotore del gene mutato, essendo la formazione di foci risultata indipendente dalla metilazione del promotore. La determinazione

dell'entità dell'espansione della sequenza ripetuta tramite Southern blot ha mostrato una ampia variabilità tra le diverse linee iPSC mutate, che contengono da 100 a 1300 unità di ripetizione, mentre la espansione patologica si è rivelata longitudinalmente stabile all'interno di ciascuna linea di iPSC mutata fino a 30 passaggi in coltura. I nostri dati indicano che la formazione dei foci di RNA dipende in modo direttamente proporzionale più dalla dimensione dell'espansione patologica che dalla presenza del fattore modificatore epigenetico. Il nostro studio rivela che la grande variabilità osservata nei modelli cellulari iPSC-C9 può dipendere dall'entità dell'espansione e meno dalla metilazione del gene e ciò dovrebbe essere tenuto in considerazione quando questi modelli cellulari si utilizzano per approcci farmacologici che potrebbero, quindi, dare risultati diversi in base alla diversa linea iPSC-C9 utilizzata.

Per indagare se le modificazioni epigenetiche del promotore di C9orf72 sono anche mantenute in un modello cellulare neuronale, più vicino alle cellule target principalmente affette nei pazienti SLA, abbiamo analizzato la metilazione del promotore in motoneuroni ottenuti con un protocollo di differenziamento motoneuronale dalle cellule iPSC (iPSC-MN) di un paziente C9 metilato, di un paziente C9 non metilato e di due controlli sani. Degno di nota è il fatto che le caratteristiche epigenetiche e l'espressione genica viene mantenuta nelle iPSC-MN. Infatti, il profilo di metilazione del promotore è risultato stabile in tutte le cellule dopo tre differenti differenziamenti motoneuronali, e le isoforme V1 e V3 erano diminuite nelle cellule iPSC-MN C9 metilate rispetto alle non metilate, similmente a quanto osservato nelle iPSC indifferenziate.

Poiché' una traduzione dell'RNA espanso indipendente dal codone di inizio AUG, detta RAN translation, determina la formazione di dipeptidi tossici (DPR) che si formano specificamente nel citoplasma delle cellule neuronali, abbiamo misurato il contenuto dei DPR polyGPn mediante Mesoscale Discovery nei lisati di iPSC-MN. Un più alto contenuto di polyGPn è stato riscontrato nelle iPSC-MN C9 metilate rispetto alle non metilate e tale aumento, anche se non statisticamente significativo, era in linea con un più alto numero di foci di RNA e numero di foci/cellula osservati nelle iPSC-MN C9 metilate.

#### ***LA MODIFICAZIONE POST-TRADUZIONALE DI SUMOILAZIONE DELLA PROTEINA TDP-43 NELLA SLA (Progetto SUMALS, finanziato da Agenzia di ricerca AriSLA –Prof.ssa A.Ratti)***

La proteina TDP-43, marcatore neuropatologico della SLA familiare e sporadica nonché di alcune forme di FTD, è soggetta a diverse modificazioni post-traduzionali, quali fosforilazione e acetilazione, che ne possono influenzare la stabilità e la propensione all'aggregazione in condizione di malattia. Nel corso dell'anno abbiamo terminato la caratterizzazione della modificazione post-traduzionale di SUMOilazione di TDP-43 che avviene a livello nucleare e che è in grado, secondo i nostri dati funzionali in vitro, di influenzare la capacità di splicing della proteina, in particolare nella sua attività di exon skipping, suggerendo un ruolo regolatorio di SUMO in tale processo. Abbiamo inoltre terminato lo studio del ruolo della SUMOilazione sul trasporto nucleo-citoplasma di TDP-43 endogeno o mutagenizzato per essere SUMO-resistente. La modulazione della SUMOilazione mediante over-espressione di proteine ricombinanti UBC9 e SENP1 che favoriscono o sfavoriscono, rispettivamente, la coniugazione di SUMO alla proteina target, ha permesso di definire che la SUMOilazione di TDP-43 ha un ruolo attivo sul trafficking della stessa proteina nel citoplasma. Tali dati sono stati confermati anche dall'utilizzo di un peptide cellulo-permeabile derivato dall'enzima deSUMOilante SENP1 (TS1) che ha mostrato una maggior localizzazione della proteina TDP-43 nel citoplasma dopo trattamento di cellule SK-N-BE e, ancor più importante, l'induzione di piccoli aggregati citoplasmatici in seguito ad over-espressione del frammento C-terminale p35, che è presente nei tessuti autotici dei pazienti SLA/FTD. Ciò suggerisce che la SUMOilazione rappresenta un meccanismo la cui

disregolazione in condizioni di malattia può contribuire alla formazione degli aggregati patologici di TDP-43 nella SLA/FTD. I nostri risultati, oltre a comprendere meglio i patomeccanismi associati alla proteina TDP-43, aiutano a identificare nuovi bersagli farmacologici per possibili approcci terapeutici atti a prevenire o a rallentare la deposizione patologica di TDP-43. I risultati di questo lavoro sono ora in revisione alla rivista *Neurobiology of Aging*.

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

La nostra UO ha proseguito nel 2020 insieme alle Unità di Neurologia dell'Ospedale San Raffaele, dell'Istituto Neurologico Carlo Besta e dell'Ospedale San Gerardo di Monza uno studio di risonanza magnetica volto alla investigazione delle modalità di progressione delle patologie neurodegenerative, e in particolare della degenerazione frontotemporale e della sclerosi laterale amiotrofica, all'interno del cervello tramite l'analisi del "connectome" cerebrale.

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

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

La nostra UO partecipa allo studio fornendo 30 pazienti affetti da SLA sporadica, 10 pazienti affetti da FTD sporadica (fenotipi clinici bvFTD, svPPA, nfvPPA), 15 paziente affetti da FTD/SLA genetica (portatori di mutazioni a carico dei geni *C9orf72*, *GRN*, *MAPT*, *TARDBP*) e 10 membri di famiglie portatrici di mutazioni di tali geni. I soggetti vengono sottoposti a visite ogni 6 mesi per un massimo di 5 visite. In ogni visita vengono effettuate, oltre alla

valutazione neurologica, una valutazione neuropsicologica estensiva e un esame di RM 3T comprensivo di sequenze pesate in diffusione, RM funzionale a riposo e RM strutturale. Nella visita basale vengono anche effettuati prelievo per analisi genetica e puntura lombare per analisi liquorale con studio dei biomarcatori delle forme di demenza degenerativa.

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

Nel 2020 la U.O. di Neurologia ha preso parte, nell'ambito di una collaborazione con la Neuroradiologia della Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico ed unitamente ad altri 18 IRCCS, al progetto "Rete di Neuroimaging fase II: ottimizzazione e armonizzazione di sequenze RM avanzate e loro applicazione nello studio delle demenze e della disabilità intellettiva in età pediatrica", promosso dal ministero della Salute. Obiettivi dello studio sono stati l'ottimizzazione, l'armonizzazione e la condivisione di protocolli di imaging avanzato di RM, al fine di costituire un gruppo normativo di soggetti sani (stratificato per età) da confrontare con gruppi di pazienti con decadimento cognitivo e con disabilità intellettiva in età pediatrica in studi pilota. Questo potrà permettere di identificare parametri quantitativi di valore sia diagnostico che prognostico. Il progetto si prefigge anche di raccogliere i dati di pazienti con la prospettiva di creare dei database che integrino informazioni cliniche e radiologiche (big data). L'auspicio è che l'integrazione dei dati di neuroimaging con quelli clinici e neuropsicologici consenta in futuro di utilizzare il neuroimaging quantitativo per la gestione clinica del singolo soggetto. L'applicazione di tecniche di machine learning potrà inoltre permettere di indentificare pattern nascosti all'interno dei dati al fine di aumentare il poter diagnostico. L'Istituto Auxologico Italiano, IRCCS ha partecipato alle riunioni della Rete e WP 1, ha collaborato all'ottimizzazione ed armonizzazione delle sequenze di imaging avanzato. In particolare, si è proceduto all'acquisizione di dati sui fantocci per consentire il monitoraggio delle macchine, come previsto dal protocollo di armonizzazione della Rete. Nel corso del 2020, inoltre, sono stati arruolati e valutati clinicamente pazienti affetti da diverse forme di demenza degenerativa e soggetti sani di controllo, secondo i criteri di inclusione propri del protocollo. L'arruolamento è stato purtroppo limitato dalla pandemia da Sars-Cov2 in corso.

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

Nel corso del 2019 è stato concluso il progetto di ricerca corrente dal titolo "Studio dei depositi di ferro nella corteccia motoria di pazienti affetti da MND mediante risonanza magnetica cerebrale 3 Tesla", volto a valutare mediante la sequenza SWI (Susceptibility-Weighted Imaging) in risonanza magnetica ad alto campo (3T), l'entità e la distribuzione di sostanze paramagnetiche nella corteccia motoria nei pazienti affetti da malattia del motoneurone sia rispetto a soggetti sani sia rispetto ad altri pazienti, affetti da altre malattie neurodegenerative. In particolare, scopo dello studio è stato quello di definire un eventuale marcatore radiologico di malattia e la correlazione tra eventuale tra pattern dei depositi paramagnetici e fenotipo di malattia. Sono stati arruolati nello studio complessivamente 113 soggetti (pazienti affetti da malattia del motoneurone e soggetti di controllo). L'analisi dei dati ha permesso di identificare un promettente marker radiologico per supportare la diagnosi di Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA), mediante la valutazione quantitativa dell'ipointensità della corteccia motoria primaria nella sequenza SWI, nonché di individuare un potenziale biomarker quantitativo di coinvolgimento del I motoneurone nella SLA.

### ***VALUTAZIONE LONGITUDINALE DEGLI ASPETTI COGNITIVO-COMPORTAMENTALI IN PAZIENTI AFFETTI DA MALATTIA DI PARKINSON E MALATTIA DI HUNTINGTON TRAMITE L'UTILIZZO DELL'EDINBURGH COGNITIVE AND BEHAVIOURAL ALS SCREEN – ECAS***

Nel 2020 è proseguito lo studio atto ad indagare le proprietà psicometriche dell'ECAS nei pazienti affetti da Malattia di Parkinson e da Malattia di Huntington nella loro evoluzione longitudinale. I pazienti dello studio sono stati valutati e tuttora vengono richiamati per i follow-up a 6 mesi (T1) e a 12 mesi (T2). L'obiettivo è l'indagine della somministrabilità dell'ECAS nella longitudinalità rispetto a strumenti di valutazione cognitiva standardizzati e tradizionalmente impiegati nell'indagine del funzionamento cognitivo globale e dell'efficienza frontale, nonché l'analisi delle correlazioni presenti tra gli indici cognitivi, comportamentali e psicologici rilevati mediante la batteria di test somministrata. Sono, inoltre, state somministrate ai pazienti PD e HD le scale atte a valutare lo stato clinico e funzionale (UPDRS e UHDRS). Oltre all'ECAS, sono stati somministrati due test cognitivi indaganti l'efficienza frontale (FAB), il funzionamento cognitivo globale (MoCA) e un test di Teoria della Mente (RME), una scala per misurare l'apatia (I-DAS) e due scale psico-emotive volte ad indagare la presenza di sintomatologia depressiva (BDI) e ansiosa (STAI/Y). Questo lavoro rappresenta il primo studio italiano sulla somministrazione dell'ECAS ad altre patologie neurodegenerative condizionanti le abilità verbo-motorie lungo il decorso di malattia.

**APATIA ED ALTERAZIONI COGNITIVE NELLA SCLEROSI LATERALE AMIOTROFICA ED IN ALTRE PATOLOGIE NEURODEGENERATIVE A COINVOLGIMENTO SOTTOCORTICALE** Evidenze cliniche hanno indicato negli ultimi anni come l'apatia rappresenti il disturbo comportamentale più comune e più rilevante nei pazienti affetti da SLA (Goldstein & Abrahams, 2013; Poletti et al., 2016; Crockford et al., 2018). Si stima, infatti, che sia presente nel 30-60% dei pazienti (Grossman et al., 2007; Lillo et al., 2010) ed appare strettamente connessa alla compromissione cognitiva, nonché ad una prognosi peggiore nei pazienti con SLA (Caga et al., 2016). Di recente è stata sviluppata la Dimensional Apathy Scale - DAS, una scala specificatamente progettata per pazienti con disabilità motoria che valuta 3 sottotipi di apatia a base neurologica (Esecutiva, Emotiva e di Iniziativa) (Radakovic et al., 2016).

Scopo del nostro studio è dunque quello di indagare l'associazione tra le diverse forme di apatia, misurate con la versione italiana della DAS - I-DAS (Santangelo et al., 2016) e le prestazioni ottenute ai test cognitivi. In particolare, oltre alla I-DAS, ai pazienti affetti da SLA arruolati nello studio sono state somministrate due batterie di screening cognitivo-comportamentale (ECAS e ALS-CBS), un test per valutare il funzionamento cognitivo globale (MoCA), una batteria per l'indagine dell'efficienza frontale (FAB), un test non verbale per l'assessment dell'attribuzione di intenzioni ed emozioni (Story-Based Empathy Task – SET). Infine, i pazienti hanno completato due scale psico-emotive volte ad indagare la presenza di sintomatologia depressiva (BDI) e ansiosa (STAI/Y). Ulteriore scopo dello studio è quello di indagare le medesime ipotesi su due altre patologie neurodegenerative a spiccato coinvolgimento sottocorticale, quali la Malattia di Parkinson (PD) e la Malattia di Huntington (HD).

Ad oggi sono stati oggetto di studio 40 pazienti SLA, 73 pazienti PD e 35 pazienti HD, le cui prestazioni sono state confrontate con un campione di 25 soggetti sani.

#### **ADVANCED CARE PLANNING AND MENTAL CAPACITY IN ALS**

Nel corso del 2020 il gruppo di studio ha approfondito il filone di ricerca riguardante l'assessment delle capacità del paziente affetto da SLA di fornire un consenso informato, specialmente per quel che riguarda le disposizioni anticipate di trattamento e le decisioni di fine vita. Oggetto di studio è in particolare la possibilità di disporre di strumenti efficaci nel valutare tali abilità in fasi avanzate di malattia, laddove i tradizionali strumenti di valutazione neuropsicologica delle abilità cognitive dei pazienti risultano difficilmente applicabili a causa dell'aggravarsi delle abilità verbo-motorie degli stessi. Tale tematica è stata oggetto di una

Letter to the Editor pubblicata su Neurological Science nel maggio 2020 (Poletti B, Carelli L, Lunetta C, Ticozzi N, Silani V).

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

**Neurol Sci.** 2020 Oct;41(10):2997-2998. doi: 10.1007/s10072-020-04462-x. Epub 2020 May 20. PMID: 32435995).

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

Nel corso del 2020 è iniziata la validazione delle forme parallele della versione italiana dell'ECAS, che ha come obiettivo quello di consentire una valutazione ripetuta nel tempo delle funzioni cognitive nei pazienti affetti da SLA e monitorare accuratamente la progressione degli aspetti cognitivo-comportamentali durante il decorso della malattia. Scopo primario dello studio è quello di sviluppare due forme parallele ed equivalenti della versione italiana dell'ECAS-A (ECAS-B e ECAS-C), al fine di disporre di misure sensibili che consentano un'accurata valutazione, ripetuta nel tempo, degli aspetti cognitivo-comportamentali nei pazienti affetti da SLA durante il decorso di malattia, superando così la problematica relata al possibile 'affetto pratica', e di fornire i relativi dati normativi suddivisi per età e livello d'istruzione. Nello specifico, questo studio si propone di: (1) validare due forme parallele della versione italiana dell'ECAS-A (ECAS-B e ECAS-C), ossia sviluppare e presentare le due versioni parallele ECAS-B ed ECAS-C; (2) indagare l'equivalenza delle due forme parallele dell'ECAS rispetto alla versione originale ECAS-A; (3) fornire i relativi dati normativi suddivisi per età e livello di istruzione; (4) valutare se le forme parallele dell'ECAS riducono l'effetto pratica durante la somministrazione in serie rispetto alla somministrazione ripetuta dell'ECAS originale; (5) indagare l'affidabilità inter-operatore delle tre versioni dell'ECAS. In seguito alla validazione delle forme parallele italiane dell'ECAS su un campione di soggetti sani, si somministreranno le stesse, unitamente ad altri test cognitivi e scale comportamentali, ad un gruppo di pazienti affetti da SLA. A questi pazienti verrà somministrato l'ECAS-A al momento del reclutamento dello studio, l'ECAS-B a 6 mesi e l'ECAS-C a 12 mesi di follow-up, al fine di descrivere l'andamento nel tempo del profilo cognitivo-comportamentale di questi pazienti. Nel 2020 è iniziato il reclutamento e la somministrazione dei soggetti sani che andranno a costituire il campione in studio per la costruzione dei dati normativi delle due versioni parallele ECAS-B e ECAS-C.

### **TELEPISCOTERAPIA**

La necessità di adottare misure di distanziamento sociale a causa della diffusione di COVID-19 ha spinto molti professionisti a adottare una modalità terapeutica a distanza. Possiamo considerare la telepsicoterapia una valida alleata in questo momento di emergenza ed eventualmente in futuro? Per rispondere a questo interrogativo, è stata condotta una revisione sistematica della letteratura prodotta sul tema negli ultimi 5 anni, con lo scopo di raccogliere e sintetizzare le evidenze scientifiche più recenti riguardo l'efficacia e le attitudini nei confronti della telepsicoterapia da parte di terapeuti e pazienti. È emerso che, nonostante lo scetticismo di terapeuti e pazienti, la telepsicoterapia può rappresentare un'efficace alternativa alla terapia tradizionale. In particolare, anche in presenza di condizioni psicopatologiche tipicamente associate allo scoppio di epidemie virali, come ansia, depressione e disturbo post-traumatico da stress. Così come per la terapia in presenza, la continuità terapeutica nel tempo e un'appropriata gestione delle aspettative del paziente sembrano favorirne l'efficacia. Al contrario, una scarsa familiarità con la tecnologia e gli strumenti di comunicazione on-line, così come l'incombenza di problemi tecnici durante le sedute, sono stati riconosciuti come

possibili minacce alla riuscita terapeutica. Tale tematica è stata oggetto di un articolo pubblicato su *Counselling Psychology Quarterly* (Poletti, B., Tagini, S., Brugnera, A., et al., (2020).

*Telepsychotherapy: a leaflet for psychotherapists in the age of COVID-19. A review of the evidence.*

*Counselling Psychology Quarterly*, 1-16).

### **PREDITTORI DELLA PERCEZIONE DEL RISCHIO PER MALATTIE RESPIRATORIE INFETTIVE**

La misura in cui ogni persona aderisce alle misure di contenimento della pandemia in atto è significativamente influenzata dalla percezione che ogni individuo ha del rischio di contrarre l'infezione e delle possibili conseguenze che ciò potrebbe avere. Per poter promuovere una percezione verosimile è indispensabile comprendere quali fattori influenzano il rischio percepito e quali popolazioni sono più esposte ad avere percezioni distorte. In tal modo sarà possibile promuovere un'efficace comunicazione del rischio, identificando i target su cui intensificare lo sforzo comunicativo. Per tale ragione abbiamo condotto una revisione sistematica della letteratura finalizzata ad individuare quali gruppi siano più soggetti ad avere percezioni distorte o quali variabili influenzano la percezione del rischio in malattie simili a COVID-19 (i.e., infettive e respiratorie). In generale, numerosi fattori di natura demografica (e.g., età, educazione, classe sociale), epidemiologica (e.g., contatto con persone affette, esposizione occupazionale) e psicologica (e.g., efficacia percepita, tratti di personalità) influenzano il rischio percepito, sebbene quest'ultimo ambito sia stato poco investigato.

Ref: Sofia Tagini, Agostino Brugnera, Roberta Ferrucci, Ketti Mazzocco, Angelo Compare, Vincenzo Silani, Gabriella Pravettoni, Barbara Poletti. It won't happen to me! Psychosocial Factors Influencing Risk Perception for Respiratory Infectious Diseases. A Scoping Review. Under review in *Applied Psychology: Health and Well-being*.

### **PREDITTORI DELLA PERCEZIONE DEL RISCHIO PER COVID-19 IN ITALIA**

Sulla base dei risultati appena menzionati, la percezione del rischio per COVID-19 e i possibili fattori di influenza sono stati investigati in un campione di 911 volontari in Italia, tramite l'utilizzo di un questionario on-line. Particolare attenzione è stata rivolta allo studio dei possibili fattori psicologici di influenza, relativamente poco considerati nella letteratura precedente. Abbiamo dimostrato che le dimensioni di attaccamento influiscono significativamente la percezione del rischio: un attaccamento ansioso aumenta il rischio percepito mentre un attaccamento evitante riduce la percezione del rischio. La tendenza a reagire in modo sproporzionato di fronte a situazioni di potenziale pericolo e, al contrario, la tendenza a prendere le distanze da situazioni problematiche tipiche dell'una e dell'altra dimensione di attaccamento potrebbero spiegare i risultati ottenuti. In linea con questa ipotesi, persone con una maggiore sintomatologia ansiosa sembrano avere una maggiore percezione del rischio. Infine, coloro che credono che la propria salute dipenda da altri, tendono a percepire maggiore rischio, probabilmente a causa di una bassa percezione di controllo. Inoltre, lo studio dimostra che non solo numerosi fattori influenzano la percezione del rischio ma che, a sua volta, il rischio percepito aumenta l'adesione alle misure di contenimento. Tale lavoro è stato inviato per pubblicazione a *Frontiers in Psychology* ed è al momento in revisione (Sofia Tagini, Agostino Brugnera, Roberta Ferrucci, Ketti Mazzocco, Luca Pievani, Alberto Priori, Nicola Ticozzi, Angelo Compare, Vincenzo Silani, Gabriella Pravettoni and Barbara Poletti. Attachment, Personality and Locus of Control: Psychological Determinants of Risk Perception and Preventive Behaviors for COVID-19. Under review in *Frontiers in Psychology*).



## **IL PENSIERO CONTROFATTUALE**

Il pensiero controfattuale (counterfactual thinking - CFT) è la capacità di generare nella mente alternative ipotetiche a ciò che è accaduto. Il CFT ha un ruolo fondamentale nell'apprendimento, poiché permette di riflettere su come sarebbero andate le cose se ci fossimo comportati diversamente (ad esempio, se avessimo studiato di più, o se fossimo usciti di casa per tempo), influenzando il nostro comportamento in futuro; d'altra parte, il CFT ha anche una funzione affettiva, poiché ci fa sentire "sollevati" al pensiero di ciò che (di peggio) sarebbe potuto accadere. Alterazioni del CFT potrebbero quindi essere legate ad alterazioni comportamentali e della regolazione affettiva tipiche di alcune patologie, come quelle psichiatriche e neurologiche/neurodegenerative. Questa informazione è cruciale per un'adeguata presa in carico del paziente e per elaborare strategie di intervento adeguate. Per tanto, è stata svolta una revisione della letteratura per individuare quanto fino ad ora è stato riportato sul tema, quali sono state le popolazioni tenute in considerazione e le metodologie utilizzate. In generale, è emerso che alterazioni del pensiero controfattuale sono presenti sia in popolazioni psichiatriche (e.g., depressione, schizofrenia, disturbo post-traumatico da stress) che neurologiche (e.g., Malattia di Parkinson, di Huntington, pazienti con lesioni orbito-frontali), in particolare, associate ad una disfunzione fronto-esecutiva. Di conseguenza, non solo è bene arricchire le evidenze preliminari riportate in queste patologie ma è necessario estendere l'indagine ad altre patologie a rischio, come la Sclerosi Laterale Amiotrofica. Questa revisione è stata recentemente accettata per pubblicazione su PlosOne (Sofia Tagini, Federica Solca, Silvia Torre, Agostino Brugnera, Andrea Ciammola, Ketti Mazzocco, Roberta Ferrucci, Vincenzo Silani, Gabriella Pravettoni and Barbara Poletti. Counterfactual thinking in psychiatric and neurological diseases: a scoping review). Inoltre, tale filone di ricerca sarà oggetto di uno studio sistematico su pazienti affetti da Sclerosi Laterale Amiotrofica che avrà luogo nel 2021.

## **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).



### **PROGETTO ISTITUTI VIRTUALI NAZIONALI**

Nel 2020 è stato avviato il progetto multicentrico dedicato alla costituzione degli Istituti Neurologici Virtuali Nazionali, che vede coinvolti 23 IRCCS della rete RIN delle Neuroscienze e Neuroriabilitazione. Il progetto prevede la costituzione di diversi Istituti Virtuali dedicati a specifiche categorie di patologie neurologiche. In particolare nella prima fase del progetto vengono costituiti gli Istituti Virtuali dedicati alle demenze, alla malattia di Parkinson/altri disturbi del movimento, e alla sclerosi multipla. Il progetto, nella sua prima fase attualmente in corso, ha l'obiettivo preliminare di mappare le risorse, le competenze, le tecnologie e le metodiche a disposizione dei vari IRCCS relativamente ai diversi settori di studio delle patologie di interesse (clinica, neuropsicologia, neuroimaging, biochimica, genetica, ecc.) e l'obiettivo principale di procedere alla armonizzazione delle metodiche tramite la elaborazione di protocolli (SOP) da condividere tra i diversi IRCCS. Questo consentirà un diffuso ed armonico potenziamento delle risorse clinico-scientifiche a disposizione dei diversi IRCCS, con un conseguente avanzamento sia del livello clinico-assistenziale sia delle attività di ricerca di base e clinica, portando la rete in condizione di competitività, in termini sia qualitativi sia quantitativi, nei confronti di analoghe istituzioni esistenti a livello internazionale ed in particolare europeo. Il nostro Centro partecipa al progetto nel suo complesso e in particolare ai due Istituti Virtuali dedicati alle demenze e alla malattia di Parkinson/altri disturbi del movimento, nell'ambito dei quali si avvale di referenti dedicati ai diversi task clinici e scientifici. Il progetto ha ottenuto un finanziamento ministeriale complessivo di 2.255.700,00 Euro.

### **CENTRO TRIAL**

Nel 2020 è stata rivolta particolare attenzione allo sviluppo di un Centro Trial volto al trattamento sperimentale con nuovi farmaci per rallentare il decorso, in particolare, della Sclerosi Laterale Amiotrofica. Presso il centro, diretto dal Prof. Vincenzo 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 2020, pur con le difficoltà legate alla pandemia da virus Sars-Cov2, abbiamo concluso trial clinici di Fase II e III sia a livello nazionale che internazionale (europeo e globale) con i protocolli TUDCA, Co-ALS, Stim-ALS, ed Alexion. 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. Una importante revisione di quanto offerto dalla moderna tecnologia è stata conclusa (Pinto et al., *J Neurol Sci* 2020).

### **L' ATTIVITÀ DEL CENTRO "DINO FERRARI" SI È ARTICOLATA NEL 2020 CON I SEGUENTI CENTRI:**

#### **CENTRO SCLEROSI LATERALE AMIOTROFICA (SLA)**

Nell'anno 2020, 230 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

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

Nell'ambito della nascente EAN il Prof. V. Silani è stato rinominato (2019-) membro del pannello dedicato alle Malattie del Motoneurone e Demenza Frontotemporale.

### **CENTRO MALATTIE EXTRAPIRAMIDALI**

Nel corso dell'anno 2019-2020, oltre 500 nuovi pazienti circa affetti da diversi disordini extrapiramidali del movimento (Morbo di Parkinson, Paralisi Sopranucleare Progressiva, Atrofia Multisistemica e Degenerazione Cortico-Basale, Corea di Huntington, ect.) sono stati esaminati e trattati presso il "Centro Disturbi del Movimento" che ha eseguito circa 1.500 visite ambulatoriali. È stata creata una stretta collaborazione con l'Associazione Parkinson Milano di cui il Prof. V. Silani fa parte del Comitato Scientifico creando un interscambio scientifico e di pazienti. È stata creata una équipe multispecialistica per la presa in carico del paziente. Il Centro è stato originariamente riconosciuto nell'ambito del NECTAR (Network for European CNS Transplantation and Regeneration) dedicato alle malattie extrapiramidali.

Dal 2005 è presente un Centro dedicato alla Malattia di Huntington con creazione di una équipe plurispecialistica formata da neurologi, psichiatri, neuropsicologi, logopedisti e fisioterapisti nell'intento di fornire un approccio interdisciplinare al paziente, garantendo così un supporto ed un riferimento costante nel tempo che è stato esteso anche ai familiari. Nell'ambito della

Malattia di Huntington l'assenza di una cura risolutiva della malattia comporta un particolare impatto emotivo nel soggetto che ancora asintomatico decide di testarsi per la mutazione. Ciò impone un continuo supporto psicologico al paziente durante tutto il lungo processo che porta alla diagnosi pre-clinica. Per questo è stato sviluppato ed applicato un protocollo di test predittivo nella Malattia di Huntington secondo le linee guida dell'International Huntington Association e della Federazione Mondiale di Neurologia. Nel corso del 2019-20 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 (Dott.ssa Carolina Lombardi). Particolare attenzione è oggi dedicata alla cura della disfagia ed accanto alle complicanze polmonari principale causa di morte dei pazienti. Il Dott. Andrea Ciammola ha dato particolare impulso a questa iniziativa unitamente alla équipe multidisciplinare dedicata.

Nel corso del 2020 è inoltre iniziato 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.

### **CENTRO DISTURBI COGNITIVI e DEMENZE (CDCD)**

Nell'anno 2020 si è registrato, nonostante le limitazioni imposte dalla epidemia di Covid-19, un considerevole numero di pazienti che si sono rivolti al nostro Centro per una valutazione neuropsicologica. Sono state effettuate oltre 3.000 prestazioni neuropsicologiche e psicodiagnostiche per pazienti degenti in regime di ricovero ordinario o in Day Hospital o per pazienti ambulatoriali, nonché 1.000 colloqui psicologici clinici in pazienti affetti da molteplici forme di coinvolgimento cognitivo quali Mild Cognitive Impairment (MCI), Malattia di Alzheimer, Demenza Fronto-Temporale, Demenza con Corpi di Lewy, Parkinson-Demenza, Malattia di Huntington, Paralisi Sopranucleare Progressiva e Degenerazione Cortico-Basale. Oltre all'ambulatorio neuropsicologico convenzionato S.S.N. è operativo un ambulatorio di Valutazione Multidimensionale dei Disturbi Cognitivi condotto congiuntamente da neurologo e neuropsicologo nell'ottica di fornire al paziente affetto da patologia cognitiva un'approccio multidisciplinare che tenga conto delle molteplici problematiche che spesso ne caratterizzano il decorso clinico. Particolare attenzione è stata posta alla valutazione neuropsicologica longitudinale dei pazienti affetti da patologia motoneuronale (SLA, PLS) esaminati nel Centro SLA. Sono stati organizzati diversi eventi formativi ECM in merito all'inquadramento dei disturbi cognitivi, agli aspetti di diagnosi differenziale e gestione dei disturbi psico-emotivi delle malattie neurodegenerative.

Il Centro lavora in sinergia con il Laboratorio di ricerca di neuroscienze e con il Laboratorio analisi, ove vengono effettuati saggi in chemiluminescenza (CLEIA) per il dosaggio su liquor dei biomarcatori della malattia di Alzheimer (frammento amiloide beta 1-42, frammento amiloide beta 1-40, proteina tau totale, proteina tau fosforilata).

Il Centro per i Disturbi Cognitivi e le Demenze (CDCD) afferente alla U.O. di Neurologia dell'IRCCS Istituto Auxologico Italiano, di cui è responsabile il Prof. V. Silani, è riconosciuto dalla Regione Lombardia ed inserito nell'elenco dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS).

### **CENTRO CEFALEE**

Il Centro Cefalee dell'Istituto Auxologico Italiano, IRCCS ha ottenuto la qualifica di centro di II° livello da Regione Lombardia in base a criteri valutativi che hanno considerato il numero, la tipologia e la differenziazione delle prestazioni offerte ai pazienti. Tale riconoscimento ha consentito al Centro Cefalee di poter essere prescrittore dei nuovi trattamenti antiemicranici

(anticorpi monoclonali anti CGRP) e di aprire Ambulatori dedicati esclusivamente all'erogazione di queste terapie.

L'attività del Centro Cefalee così si articola:

- 1) VISITE AMBULATORIALI: in diverse sedi dell'Istituto Auxologico, distribuite nell'area milanese e brianzola, vi sono ambulatori di II livello dedicati ai pz emicranici (Ospedale San Luca, Clinica San Carlo, poliambulatorio Procaccini, Poliambulatorio di Pioltello e di Meda), totalizzando circa 1500 visite nell'anno 2020
- 2) MACROATTIVITA' AMBULATORIALE COMPLESSA: costituita da trattamenti endovena, della durata di 5 giorni, finalizzati alla disassuefazione dei pazienti con emicrania cronica che hanno assunto in modo incongruo FANS e triptani. Nel 2020 sono stati effettuati 20 trattamenti
- 3) TERAPIA CON TOSSINA BOTULINICA: Un totale di circa 100 pazienti, affetti da emicrania cronica e non responsivi ai comuni farmaci di profilassi, sono stati sottoposti ad infiltrazioni di tossina botulinica nel 2020
- 4) TERAPIA PSICOCOMPORTAMENTALE: tecniche di rilassamento muscolare e di mindfulness si affiancano e supportano efficacemente le tradizionali terapie farmacologiche agendo sui fattori emotivi e comportamentali presenti nei pazienti emicranici. Nel 2020 15 pazienti sono stati indirizzati a questi trattamenti
- 5) NUOVE TERAPIE ANTIEMICRANICHE: La recente disponibilità di utilizzo di anticorpi monoclonali anti CGRP ha aperto nuove possibilità terapeutiche nell'ambito delle emicranie. Al Centro Cefalee dell'Auxologico è stata data la possibilità di utilizzare i tre anticorpi erenumab, galcanezumab e fremanezumab nei pazienti emicranici cronici, per i quali la terapia di profilassi tradizionale era risultata inefficace o causa di importanti effetti collaterali. Sono stati trattati complessivamente 60 pazienti
- 6) REGISTRO NAZIONALE EMICRANIE CRONICHE: Il Centro Cefalee dell'Auxologico partecipa, insieme ad altri centri italiani, al progetto di costituzione di un registro nazionale della emicrania cronica, iniziativa promossa dall'Istituto Superiore della Sanità, con l'intento di definire con precisione l'epidemiologia, l'impatto sociale e il peso economico dell'emicrania cronica.
- 7) AGOPUNTURA-DIETA CHETOGENICA: La validità scientifica, supportata da numerosi ricerche, di agopuntura e dieta chetogenica, le rende delle utili misure da affiancare ai farmaci. Quindi la presenza, all'interno dell'Istituto Auxologico, di un medico agopunturista e di una dietologa specializzata nella prescrizione della dieta chetogenica va incontro alla richiesta di un numero sempre maggiore di pazienti che, oltre alle terapie tradizionali, richiedono trattamenti non farmacologici per la cefalea

### **CENTRO DI MEDICINA DEL SONNO**

È continuata nel corso del 2020 l'attività del Centro di Medicina del Sonno presso l'IRCCS Istituto Auxologico Italiano, Ospedale San Luca, diretto dal Prof. G.F. Parati e dal Prof. V. Silani e coordinato dalla dott.ssa Lombardi.

Nello 2020 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 ANNO 2020

Berardelli A, Silani V, Barone P, Calabresi P, Girlanda P, Lopiano L, Massacesi L, Monaco S, Onofri M, Tassorelli C, Tedeschi G.

*Neurology and the COVID-19 emergency.*

**Neurol Sci.** 2020 Jun;41(6):1343-1344. doi: 10.1007/s10072-020-04465-8. I.F. 2.415

Ferrarese C, Silani V, Priori A, Galimberti S, Agostoni E, Monaco S, Padovani A, Tedeschi G; Italian Society of Neurology (SIN).

*An Italian multicenter retrospective-prospective observational study on neurological manifestations of COVID-19 (NEUROCOVID).*

**Neurol Sci.** 2020 Jun;41(6):1355-1359. doi: 10.1007/s10072-020-04450-1. I.F. 2.415

Turner MR, Barohn RJ, Corcia P, Fink JK, Harms MB, Kiernan MC, Ravits J, Silani V, Simmons Z, Statland J, van den Berg LH;

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

**J Neurol Neurosurg Psychiatry.** 2020 Apr;91(4):373-377. doi: 10.1136/jnnp-2019-322541. I.F. 8.263

Calcagno N, Colombo E, Maranzano A, Pasquini J, Keller Sarmiento IJ, Trogu F, Silani V.

*Rising evidence for neurological involvement in COVID-19 pandemic.*

**Neurol Sci.** 2020 Jun;41(6):1339-1341. doi: 10.1007/s10072-020-04447-w. I.F. 2.415

Dewan R, Chia R, Ding J, Hickman RA, Stein TD, Abramzon Y, Ahmed S, Sabir MS, Portley MK, Tucci A, Ibáñez K, Shankaracharya FNU, Keagle P, Rossi G, Caroppo P, Tagliavini F, Waldo ML, Johansson PM, Nilsson CF; American Genome Center (TAGC); FALS Sequencing Consortium; Genomics England Research Consortium; International ALS/FTD Genomics Consortium (iAFGC); International FTD Genetics Consortium (IFGC); International LBD Genomics Consortium (iLBDGC); NYGC ALS Consortium; PROSPECT Consortium, Rowe JB, Benussi L, Binetti G, Ghidoni R, Jabbari E, Viollet C, Glass JD, Singleton AB, Silani V, Ross OA, Ryten M, Torkamani A, Tanaka T, Ferrucci L, Resnick SM, Pickering-Brown S, Brady CB, Kowal N, Hardy JA, Van Deerlin V, Vonsattel JP, Harms MB, Morris HR, Ferrari R, Landers JE, Chiò A, Gibbs JR, Dalgard CL, Scholz SW, Traynor BJ.

*Pathogenic Huntingtin Repeat Expansions in Patients with Frontotemporal Dementia and Amyotrophic Lateral Sclerosis.*

**Neuron.** 2020 Nov 26:S0896-6273(20)30883-7. doi: 10.1016/j.neuron.2020.11.005. Online ahead of print.PMID: 33242422. I.F. 14.415

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

Chronic stress induces formation of stress granules and pathological TDP-43 aggregates in human ALS fibroblasts and iPSC-motoneurons.

**Neurobiol Dis.** 2020 Nov;145:105051. doi: 10.1016/j.nbd.2020.105051. Epub 2020 Aug 20.I.F. 5.332

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

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

**J Cell Mol Med.** 2020 Apr;24(7):4051-4060. doi: 10.1111/jcmm.15048. Epub 2020 Mar 3. PMID: 32125773. I.F. 4.658

Schijven D, Stevelink R, McCormack M, van Rheenen W, Luykx JJ, Koeleman BPC, Veldink JH; Project MinE ALS GWAS Consortium; *International League Against Epilepsy Consortium on Complex Epilepsies. Analysis of shared common genetic risk between amyotrophic lateral sclerosis and epilepsy.*

**Neurobiol Aging.** 2020 Aug;92:153.e1-153.e5. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2020.04.011. Epub 2020 Apr 18.PMID: 32409253. I.F. 4.347

Bendotti C, Bonetto V, Pupillo E, Logroscino G, Al-Chalabi A, Lunetta C, Riva N, Mora G, Lauria G, Weishaupt JH, Agosta F, Malaspina A, Basso M, Greensmith L, Van Den Bosch L, Ratti A, Corbo M, Hardiman O, Chiò A, Silani V, Beghi E.

*Focus on the heterogeneity of amyotrophic lateral sclerosis.*

**Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener.** 2020 Nov;21(7-8):485-495. doi: 10.1080/21678421.2020.1779298. Epub 2020 Jun 25.PMID: 32583689. I.F. 3.286

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

*CSF angiogenin levels in amyotrophic lateral Sclerosis-Frontotemporal dementia spectrum.*

**Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener.** 2020 Feb;21(1-2):63-69. doi: 10.1080/21678421.2019.1704016. Epub 2019 Dec 18.PMID: 31852251. I.F. 3.286

Pinto S, Quintarelli S, Silani V.

*New technologies and Amyotrophic Lateral Sclerosis - Which step forward rushed by the COVID-19 pandemic?*

**J Neurol Sci.** 2020 Nov 15;418:117081. doi: 10.1016/j.jns.2020.117081. Epub 2020 Aug 5.PMID: 32882437. I.F. 3.115

Schindler A, Pizzorni N, Sassone J, Nanetti L, Castaldo A, Poletti B, Solca F, Pirola F, Lazzari L, Stramba-Badiale M, Rossi A, Silani V, Mariotti C, Ciammola A.

*Fiberoptic endoscopic evaluation of swallowing in early-to-advanced stage Huntington's disease.* **Sci Rep.** 2020 Sep 17;10(1):15242. doi: 10.1038/s41598-020-72250-w.PMID: 32943712.I.F. 3.998

Verde F, Zaina G, Bodio C, Borghi MO, Soranna D, Peverelli S, Ticozzi N, Morelli C, Doretto A, Messina S, Maderna L, Colombrita C, Gumina V, Tiloca C, Meroni PL, Zambon A, Ratti A, Silani V.

Cerebrospinal fluid phosphorylated neurofilament heavy chain and chitotriosidase in primary lateral sclerosis.

**J Neurol Neurosurg Psychiatry.** 2021 Feb;92(2):221-223. doi: 10.1136/jnnp-2020-324059. Epub 2020 Aug 27.PMID: 32855294 I.F. 8.263

Castelnovo V, Canu E, Calderaro D, Riva N, Poletti B, Basaia S, Solca F, Silani V, Filippi M, Agosta F.

*Progression of brain functional connectivity and frontal cognitive dysfunction in ALS.*

**Neuroimage Clin.** 2020;28:102509. doi: 10.1016/j.nicl.2020.102509. Epub 2020 Nov 19. PMID: 33395998. I.F. 4.350

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

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

**Neurol Sci.** 2020 Oct;41(10):2997-2998. doi: 10.1007/s10072-020-04462-x. Epub 2020 May 20. PMID: 32435995. I.F. 2.415

Spinelli EG, Riva N, Rancoita PMV, Schito P, Doretti A, Poletti B, Di Serio C, Silani V, Filippi M, Agosta F.

*Structural MRI outcomes and predictors of disease progression in amyotrophic lateral sclerosis.*

**Neuroimage Clin.** 2020;27:102315. doi: 10.1016/j.nicl.2020.102315. Epub 2020 Jun 17. PMID: 32593977. I.F. 4.350

Schito P, Ceccardi G, Calvo A, Falzone YM, Moglia C, Lunetta C, Marinou K, Ticozzi N, Scialò C, Sorarù G, Trojsi F, Conte A, Tortelli R, Russo M, Zucchi E, Pozzi L, Domi T, Carrera P, Agosta F, Quattrini A, Fazio R, Chiò A, Sansone VA, Mora G, Silani V, Volanti P, Caponnetto C, Querin G, Tedeschi G, Sabatelli M, Logroscino G, Messina S, Mandrioli J, Riva N, Filippi M.

*Clinical features and outcomes of the flail arm and flail leg and pure lower motor neuron MND variants: a multicentre Italian study.*

**J Neurol Neurosurg Psychiatry.** 2020 Sep;91(9):1001-1003. doi: 10.1136/jnnp-2020-323542. Epub 2020 Jul 10. PMID: 32651246. I.F. 8.263

Scialò C, Tran TH, Salzano G, Novi G, Caponnetto C, Chiò A, Calvo A, Canosa A, Moda F, Caroppo P, Silani V, Ticozzi N, Ratti A, Borroni B, Benussi L, Ghidoni R, Furlanis G, Manganotti P, Senigaglia B, Parisse P, Brasselet R, Buratti E, Legname G.

*TDP-43 real-time quaking induced conversion reaction optimization and detection of seeding activity in CSF of amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia patients.*

**Brain Commun.** 2020 Sep 14;2(2):fcaa142. doi: 10.1093/braincomms/fcaa142. eCollection 2020. PMID: 33094285. I.F.no

Coraini A, Tiloca C, Ratti A, Michelozzi G, Maderna L, Silani V.

*Cervical transverse MRI in ALS diagnosis and possible link to VEGF and MMP9 single nucleotide polymorphisms. Case Report.*

**SN Comprehensive Clinical Medicine.** 2020. doi.org/10.1007/s42399-020-00281-5. I.F. no

Poletti B, Tagini S, Brugnera A, Parolinc L, Pievanib L, Ferrucci R, Compare A, Silani V. *Telepsychotherapy: a leaflet for psychotherapists in the age of COVID-19. A review of the evidence.*

**Counselling Psychology Quarterly** 2020. doi.org/10.1080/09515070.2020.1769557. I.F. no

**TOTALE I.F. 85.586**

## INIZIATIVE DIDATTICHE ISTITUZIONALI

### Charcotiadi : i giovedì dell'aggiornamento

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

### I mercoledì dell'aggiornamento del Laboratorio di Neuroscienze

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

### I mercoledì del gruppo di lavoro SLA/FTD

- Aggiornamenti sulle Linee Guida
- Novità cliniche e terapeutiche
- Sperimentazioni nazionali ed internazionali

### Partecipazione Editorial Board Internazionali

- Amyotrophic Lateral Sclerosis and other Neuron Disorders
- European Neurology
- American Journal of Neurodegenerative Diseases
- Annals of Transplantation Research

### Stage all' estero di ricercatori:

- Dott.ssa Isabella Fogh - Department of Basic and Clinical Neuroscience, Institute of Psychiatry, Psychology & Neuroscience King's College London, UK
- Ignacio Juan Keller Sermineto, Feinberg School of Medicine - Northwestern University - Chicago, USA

### Ricercatori stabilmente all' estero

- Dott. Niccolò Mencacci – Feinberg School of Medicine - Northwestern University - Chicago, USA
- Dott.ssa Claudia Fallini – UMass Medical School, Worcester, Massachusetts, USA

### Fondi Acquisiti nel corso del 2020

Tipo Bando e Finanziamento	Ente Finanziatore	GRUPPO	Titolo	Finanziamento quota IAI (Atteso)
RF	Ministero Salute	Silani	Cross-disease analysis of molecular and cellular mechanisms in KIF5A-associated neurodegenerative disorders	150.150,00
Era-Net CVD 2	Ministero Salute	Silani	Genomic Instability of Expanded Repeats in HD and ALS/FTD	210.000,00
RF	Ministero Salute	Silani	Dysfunction of RNA processing and autophagy in human ALS disease cell models: a bioassay for new therapeutic strategies	260.000,00
RF	Ministero Salute	Silani	Peripheral Nervous System involvement in Amyotrophic Lateral Sclerosis: from diagnosis to disease understanding.	175.000,00
RF	Ministero Salute	Silani	Targeting synapse dysfunction in Parkinson's disease	30.000,00



Call for Applications for ALS research projects	AriSla	Silani	Autozygosity mapping followed by next generation sequencing in unrelated consanguineous individuals to identify novel ALS-associated genes	<b>178.500,00</b>
Bando SEED 2019	Università degli Studi di Milano	Silani	Gender modulation of c9orf72 toxicity in amyotrophic lateral sclerosis	<b>30.000,00</b> <b>(non finanziamento a IAI)</b>

**Tot. 1.033.650,00**



**SEDE DISTACCATA DEL CENTRO “DINO FERRARI” PRESSO IL  
LABORATORIO DI BIOLOGIA MOLECOLARE, CITOGNETICA, ANALISI  
BIOCHIMICO-CLINICHE, BIOINFORMATICA- IRCCS E. MEDEA**

**RESPONSABILE:**

Dott Maria Teresa Bassi

**PERSONALE STRUTTURATO:**

Dott Maria Teresa Bassi- Biologo

Dott. Maria Clara Bonaglia- Biologo

Dott. Rachele Cagliani- Biologo

Dott. Andrea Citterio- Biotecnologo

Dott. Andrea Daga- Biologo

Dott. Diego Forni-Biotecnologo

Dott Roberto Giorda - Biologo

Dott. Marco Pozzi- Biotecnologo

Ing Uberto Pozzoli – Bioingegnere

Dott. Elena Panzeri- Biotecnologo

Dott. Manuela Sironi - Biologo

Dott. Chiara Vantaggiato - Biologo

**PERSONALE LAUREATO BORSISTA-CONTRATTISTA:**

Dott. Sara Bertuzzo, Biologo -Collaboratore

Dott Alessandra Mozzi, Biologa Collaboratore

Dott. Chiara Pontremoli, Biologa –Universita’ di Milano

Dott. Luca Fumagalli, Biotecnologo

Ing. Maddalena Mambretti- Ingegnere

Dott. Fabiana Mambretti- Biologa

**PERSONALE TECNICO STRUTTURATO**

Cinzia Baschiroto - tecnico di laboratorio IRCCS E. Medea

Giulietta Gottardi - tecnico di laboratorio IRCCS E. Medea

Paola Pozzi - tecnico di laboratorio IRCCS E. Medea

Chiara Mapelli- tecnico di laboratorio IRCCS E. Medea

L'attività della sezione di Genetica Molecolare, nel 2020 è stata focalizzata alla caratterizzazione genetica di un'ampia casistica di pazienti con patologie neurologiche rare quali, atassie dominanti e recessive (10) sindromi atassio-spastiche (15) leucodistrofie (35) e leucoencefalopatie (3) nell'ambito di progetti finanziati da fondi ministeriali e extraministeriali. Per tutti i casi era prevista l'analisi con pannelli di geni patologia-specifici e, se negativi, l'analisi dell'esoma. E' stata condotta l'analisi dell'esoma, in 5 casi di atassie, in 6 con sindromi atassio spastiche e in un caso di leucoencefalopatia.

I primi risultati di rilievo ottenuti nell'anno in esame ed in corso di pubblicazione, hanno portato all'identificazione di due casi di pazienti SCA5, con mutazioni in SPTBN2, caratterizzati entrambi da esordio precoce della patologia e un quadro sia clinico che neuroradiologico gravi. In un caso si tratta di una mutazione missenso (p.Thr62Asn) che colpisce un residuo aminoacidico già coinvolto in un'altra mutazione nota in letteratura (p.Thr62Ile). Nel secondo caso è stata identificata la prima delezione intragenica in eterozigosi nel gene SPTBN2, di circa 10,8 kb, che elimina parte del dominio ankirin repeat del gene. Il quadro clinico associato alla delezione è inaspettatamente meno grave rispetto al quadro clinico associato alla missenso.

In un caso sporadico di leucoencefalopatia ad esordio in età adulta è stata identificata una mutazione troncante in *TACOI*, p.Glu226Ter e una variante di significato incerto, p.Tyr278Cys in *MSTO1*. La paziente è caratterizzata da un quadro clinico con una spasticità lentamente progressiva agli arti inferiori e disabilità intellettiva di grado medio-lieve. Alla risonanza sono evidenti lesioni alla sostanza bianca, con coinvolgimento delle fibre U, con allargamento dei ventricoli e atrofia cerebrale. La conferma della patogenicità della mutazione deriva dagli studi funzionali sui fibroblasti della paziente che mostrano una riduzione nella sintesi di MT-CO1 e un'alterazione dell'assemblaggio e sintesi di COX.

Tra i casi di paraparesi spastica è stato identificato un paziente con una forma atipica di paraparesi spastica e parkinsonismo, con assottigliamento del corpo calloso e mutazioni in SPG11.

Contemporaneamente abbiamo proseguito lo studio degli effetti di mutazioni in spastizina e spatacsina in cellule (fibroblasti e linfoblasti) di pazienti con mutazioni missenso e troncanti nel gene, precedentemente identificate nel laboratorio. Le cellule derivate da pazienti SPG11 e SPG15 sono caratterizzate da difetti di autofagocitosi con accumulo di autofagosomi. Le proteine Spastizina e Spatacsina sono entrambe coinvolte nel processo di formazione dei lisosomi dagli autofagosomi e le loro mutazioni sono associate ad una minore formazione di lisosomi con conseguente minore degradazione degli autofagosomi e con il loro accumulo. Abbiamo dimostrato che Spastizina e Spatacsina interagiscono con Rab5 e Rab11, due proteine leganti il GTP che regolano la fusione e la maturazione degli endosomi e la fusione endosomi-autofagosomi. Le mutazioni di Spastizina alterano le interazioni delle proteine Rab, il loro stato di attivazione ed determinano una minore fusione tra endosomi e autofagosomi con l'accumulo di autofagosomi immaturi. Abbiamo cercato di ottenere il rescue del difetto di autofagocitosi osservato in cellule SPG11 e SPG15 utilizzando diverse strategie per modulare l'attività lisosomale, l'autofagocitosi e la fusione tra endosomi e autofagosomi.

Nell'ambito della ricerca relativa ai disordini del neurosviluppo si è continuata l'attività di ricerca sulla Sindrome da delezione 22q13, nota anche come Sindrome di Phelan McDermid (PMS, MIM 606232). La PMS è una malattia del neurosviluppo causata dalla perdita (delezione) o interruzione della regione terminale del cromosoma 22 contenente il gene SHANK3, che codifica per una proteina sinaptica strutturale. Il quadro clinico, che include la manifestazione o meno di sintomi di tipo autistico e epilessia, è molto variabile anche tra pazienti con delezione della stessa taglia, ma la ragione per questo fenomeno è finora sconosciuta. E perciò probabile che altri fattori genetici, in aggiunta alla aploinsufficienza di SHANK3, abbiano un ruolo in questa variabilità. Il quadro clinico della sindrome inoltre evolve a seconda dell'età dei pazienti e l'approfondimento di questa evoluzione sarà

fondamentale per determinare il trattamento appropriato. L'attività di ricerca, in corso presso l'IRCCS E. Medea, riguarda perciò uno studio clinico-genetico su un'ampia coorte di 80 pazienti italiani con PMS di età che spazia dall'infanzia all'età adulta e prevede: a) un follow-up sistematico attraverso un approccio clinico inter-disciplinare, incluso lo studio del funzionamento cerebrale mediante studi elettroencefalografici (EEG) e di risonanza magnetica (MRI 3 Tesla), b) la definizione delle basi genetiche molecolari mediante NGS per individuare varianti genetiche clinicamente rilevanti, sia a livello della copia rimanente del gene SHANK3 che nella porzione codificante degli altri geni della regione 22q13 coinvolta nella delezione ed eventualmente, in presenza di evidenze cliniche peculiari, nel resto dell'esoma; c) uno studio mirato su una popolazione di soggetti adulti di età compresa fra i 18-50 anni attraverso una valutazione comportamentale sistematica e raccolta della storia clinica. Parallelamente è proseguito lo studio delle alterazioni della struttura tridimensionale del genoma, in qualche modo implicata nella patogenesi di questa sindrome e in base alla letteratura anche in altri disordini del neurosviluppo.

Per quanto riguarda la sezione di bioinformatica nel corso del 2020, è stato ampliato ed approfondito l'utilizzo di strumenti di evoluzione molecolare per studiare l'evoluzione e l'adattamento alla nostra specie di virus estremamente diffusi che sono in grado di infettare il sistema nervoso centrale (e.g. HCMV, HSV-1, HSV-2, JC polyoma virus, HHV-6A e HHV-6B). Sono state applicate le metodiche di evoluzione molecolare, a geni di interesse biomedico come, ad esempio, quelli che codificano per proteine del centromero o del cinetocoro. Abbiamo inoltre perfezionato e sviluppato approcci che consentano di analizzare l'evoluzione, la distribuzione geografica e l'origine di patogeni umani di grande rilevanza dal punto di vista della salute pubblica. L'obiettivo è comprendere i dettagli molecolari delle interazioni ospite-patogeno al fine di fornire informazioni utili per comprendere i determinanti molecolari di virulenza e per la produzione di vaccini o per lo sviluppo di composti ad azione antimicrobica. Abbiamo, ad esempio, identificato le varianti nel genoma di HCMV che evolvono rapidamente a causa del conflitto genetico con il sistema immunitario dell'ospite. HCMV rappresenta la forma più comune di infezione intrauterina e la principale causa infettiva di sordità e disabilità intellettiva. Chiaramente, molte di queste analisi sono rese possibili dalla crescente disponibilità di dati di sequenza presenti nei database pubblici. Visti i recenti sviluppi tecnologici, la quantità di dati disponibili continuerà a crescere nel tempo, rendendo estremamente utili approcci che, come quelli da noi applicati, possano estrarre informazioni da tali dati ed interpretarle. Analisi simili a quelle qui descritte sono ora in corso per lo studio di altri geni e di altri patogeni umani. Tra questi ultimi, ad esempio, stiamo studiando l'evoluzione dei virus del genere Flaviviridae, che comprende numerosi virus neurotropici (es. Zika virus, West Nile virus). L'aumentata diffusione di strumenti informatici che consentono l'applicazione di tecniche di analisi basate sull'Intelligenza Artificiale e, in particolare, sul Machine learning ha portato alla pratica diffusa di rianalizzare dati raccolti precedentemente utilizzando nuove strategie e metodiche, eventualmente integrandoli gli stessi con ulteriori dati che nel tempo si sono resi disponibili. Per questo, partendo da alcune promettenti esperienze in corso in istituto per quanto riguarda l'analisi di dati comportamentali e genetici in soggetti con ASD, stiamo estendendo ad altri casi la possibilità di rianalisi dei dati, eventualmente integrando dataset che inizialmente sono stati analizzati in modo indipendente. Oltre alla continuazione delle analisi sui soggetti con ASD abbiamo già individuato casi di interesse sia per quanto riguarda la possibilità di analisi multimodale che per le possibili applicazioni di metodiche di tipo machine learning. In particolare ad oggi abbiamo individuato due ulteriori dataset da rianalizzare che per le loro caratteristiche si prestano in modo particolare ad un'analisi di tipo multimodale. Studieremo un gruppo di soggetti con ADHD (studio MIMOSA) per i quali sono disponibili registrazioni EEG e NIRS contemporaneamente eseguite durante l'esecuzione di un task cognitivo. In maniera simile studieremo un gruppo di "diadi" mamma-bambino nell'ambito di uno studio

sull'impatto di depressione e ansia materna in gravidanza (studio EDI): in questo caso sono disponibili dati relativi a marcatori biologici oltre a registrazioni video, già codificate nel tempo. In entrambi i casi, applicando alle metodiche di fattorizzazione a tutti raw data estrarremo pattern significativi che verranno in seguito impiegati in sia in funzione predittiva sulle variabili outcome (discrete o continue) con adeguati strumenti di machine learning, sia nel tentativo di identificare gruppi (cluster) di individui che presentino omogeneità nei suddetti patterns per poi studiarne le caratteristiche clinico-comportamentali.

Elenco delle Ricerche sviluppate nel corso del 2020 presso il laboratorio di biologia molecolare citogenetica e bioinformatica:

- 1)Caratterizzazione di difetti nel pathway endolisosomale nelle paraparesi spastiche ereditarie e approcci per il rescue del fenotipo cellulare*
- 2)Cromotripsi germinale: effetti e frequenza nei disturbi del neurosviluppo e del comportamento.*
- 3)Approccio di Next Generation Sequencing nello studio delle meningoencefaliti: identificazione di agenti eziologici e di geni predisponenti*
- 4)Fattibilità di un approccio genomico alla diagnosi dell'ASD*
- 5)Analisi dei difetti nello sviluppo tridimensionale del reticolo endoplasmico in modelli di neurodegenerazione in Drosophila causati da mutazioni patologiche di atlastina, reticulon, REEP e DP1*
- 6)Studio evolutivo di conflitti genetici di interesse biomedico*
- 7)Predittività di varianti whole-genome nell'outcome terapeutico nelle patologie Neurodegenerative*
- 8)Approcci di farmacologia traslazionale per lo studio dei meccanismi di effetti avversi o imprevisti di farmaci, tramite l'utilizzo di dati clinici, database, letteratura e collaborazioni con ricerca di base*

### **Progetti attivi nel 2020**

- An integrated omics approach for patients with rare neurological disorders: towards personalized clinical care and trial readiness- CARE4NEURORARE (Bando Fondazione Regionale Lombarda per la ricerca biomedica).
- Characterization of SARS-CoV-2 accessory proteins in terms of host adaptation, biochemical properties, and pharmacophore models- (Bando Cariplo).
- Caratterizzazione delle sequenze codificanti di SARS-CoV-2 e valutazione del loro ruolo nella patogenesi di COVID-19- (Bando DG Welfare).

### **Collaborazioni**

Prof C. Becchio – IIT Genova

Dott. FM Santorelli- Fondazione Stella Maris, Pisa

Dott IAN HARDING, Monash Institute of Cognitive and Clinical Neurosciences, Monash University, Melbourne, Australia

Prof E. I Rugarli- Institute for Genetics CECAD Research Center

University of Cologne Joseph-Stelzmann-Str. 26 50931 Köln Germany

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.

Edward J Hollox - Department of Genetics, University of Leicester, Leicester LE2 1TE, UK

Prof Giuseppe Bianchi - Nephrology and Dialysis Unit, San Raffaele Scientific Institute, University Vita Salute San Raffaele, Milan, Ita

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. Franca Guerini - Don C. Gnocchi Foundation ONLUS, IRCCS, 20100 Milan, Italy

Dott. Mara Biasin - Department of Biomedical and Clinical Sciences, University of Milan, 20157 Milan, Italy

Prof. Roberto de Franchis - IBD Unit, Chair of Gastroenterology, Luigi Sacco University Hospital, 20157 Milan

Dott. Sergio Lo Caputo - S. Maria Annunziata Hospital, 50122 Florence, Italy

Dott. Rosanna Asselta - Dipartimento di Biotecnologie Mediche e Medicina Traslazionale, Università degli Studi di Milano, Milano, Italy.

Dott. 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

Prof. Jernej Ule - Department of Molecular Neuroscience, UCL Institute of Neurology, Queen Square, London WC1N 3BG, UK

### **Estratto pubblicazioni**

Bertini Veronica, Giuliani Cecilia, Ferreri Maria Immacolata, Orsini Alessandro, Bonuccelli Alice, Peroni Diego, Bonaglia Maria Clara, Valetto Angelo (2020);  
*A prenatal case with multiple supernumerary markers identified as derivatives of chromosomes 13, 15, and 20: molecular cytogenetic characterization and review of the literature;*  
**The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine**, in press  
 DOI: 10.1080/14767058.2019.1670808

Bonaglia Maria Clara, Bertuzzo Sara, Ciaschini Anna Maria, Discepoli Giancarlo, Castiglia Lucia, Romaniello Romina, Zuffardi Orsetta, Fichera Marco (2020);  
*Targeted next-generation sequencing identifies the disruption of the shank3 and ryr2 genes in a patient carrying a de novo t(1;22) q43;q13.3) associated with signs of phelan-mcdermid syndrome;*  
**Molecular Cytogenetics**, 13:22 DOI: 10.1186/s13039-020-00490-6

Cagliani Rachele\*, Forni Diego\*, Clerici Mario, Sironi Manuela (2020);

*Coding potential and sequence conservation of sars-cov-2 and related animal viruses;*  
**Infection, Genetics and Evolution**, 83:104353  
DOI: 10.1016/j.meegid.2020.104353

Cagliani Rachele\*, Forni Diego\*, Clerici Mario, Sironi Manuela (2020);  
*Computational inference of selection underlying the evolution of the novel coronavirus, severe acute respiratory syndrome coronavirus 2;*  
**Journal of Virology**, 94(12):e00411-e00420 DOI: 10.1128/JVI.00411-20

Cagliani Rachele\*, Forni Diego\*, Mozzi Alessandra\*, Sironi Manuela (2020);  
*Evolution and genetic diversity of primate cytomegaloviruses; Microorganisms*, 8(5):E624 -  
DOI: 10.3390/  
**microorganisms**8050624

Carnovale Carla\*, Maffioli Anna\*, Zaffaroni Gloria, Mazhar Faizan, Battini Vera, Mosini Giulia, Pozzi Marco, Radice Sonia, Clementi Emilio, Danelli Piergiorgio (2020);  
*Efficacy of tumour necrosis factor-alpha therapy in paediatric crohn's disease patients with perianal lesions: a systematic review;*  
**Expert Opinion on Biological Therapy**, 20(3):239-251 DOI: 10.1080/14712598.2020.171809

D'Amore Angelica, Tessa Alessandra, Naef Valentina, Bassi Maria Teresa, Citterio Andrea, Romaniello Romina, Fichi Gianluca, Galatolo Daniele, Mero Serena, Battini Roberta, Bertocci Giulia, Baldacci Jacopo, Sicca Federico, Gemignani Federica, Ricca Ivana, Rubegni Anna, Hirst Jennifer, Marchese Maria, Sahin Mustafa, Ebrahimi-Fakhari Darius, Santorelli Filippo Maria (2020);  
*Loss of ap4s1 in zebrafish leads to neurodevelopmental defects resembling spastic paraplegia 52;*  
**Annals of Clinical and Translational Neurology**, 7(4):584-589 DOI: 10.1002/acn3.51018

De Rinaldis Marta, Giorda Roberto, Trabacca Antonio (2019);  
*Mild epileptic phenotype associates with de novo eef1a2 mutation: case report and review;*  
**Brain and Development**, 42(1):77-82 DOI: 10.1016/j.braindev.2019.09.001

Errichiello Edoardo, Giorda Roberto, Gambale Antonella, Iolascon Achille, Zuffardi Orsetta, Giglio Sabrina (2020);  
*Rb1cc1 duplication and aberrant overexpression in a patient with schizophrenia: further phenotype delineation and proposal of a pathogenetic mechanism;*  
**Molecular Genetics & Genomic Medicine**, in press DOI: 10.1002.mgg3.1561

Forni Diego, Cagliani Rachele, Clerici Mario, Pozzoli Uberto, Sironi Manuela (2020);  
*Evolutionary analysis of exogenous and integrated hhv-6a/hhv-6b populations;*  
**Virus Evolution**, 30(6): veaa035 DOI: 10.1093/ve/veaa035

Forni Diego, Cagliani Rachele, Clerici Mario, Pozzoli Uberto, Sironi Manuela (2019);  
*you will never walk alone: co-dispersal of jc polyomavirus with human populations;*  
**Molecular Biology and Evolution**, 37(2):442-454 DOI: 10.1093/molbev/msz227

Forni Diego, Cagliani Rachele, Pontremoli Chiara, Mozzi Alessandra, Pozzoli Uberto, Clerici Mario, Sironi Manuela (2020);  
*antigenic variation of sars-cov-2 in response to immune pressure;*  
**Molecular Ecology**, in press DOI: 10.1111/mec.15730

Forni Diego, Cagliani Rachele, Sironi Manuela (2020);



*Recombination and positive selection differentially shaped the diversity of betacoronavirus subgenera;*

**Viruses**, 12:1313 DOI: 10.3390/v12111313

Forni Diego, Pontremoli Chiara, Clerici Mario, Pozzoli Uberto, Cagliani Rachele, Sironi Manuela (2019);

*recent out-of-africa migration of human herpes simplex viruses;*

**Molecular Biology and Evolution**, 37(5):1259-1271 DOI: 10.1093/molbev/msaa001

Forni Diego, Sironi Manuela (2020);

*Population structure of lassa mammarenavirus in west africa;*

**Viruses**, 12(4): E437 DOI: 10.3390/v12040437

Giovarelli Matteo\*, Zecchini Silvia\*, Martini Emanuele, Garrè Massimiliano, Barozzi Sara, Ripolone Michela, Napoli Laura, Coazzoli Marco, Vantaggiato Chiara, Roux-Biejat Paulina, Cervia Davide, Moscheni Claudia, Perrotta Cristiana, Parazzoli Dario, Clementi Emilio§, De Palma Clara§ (2020);

*Drp1 overexpression induces desmin disassembling and drives kinesin-1 activation promoting mitochondrial trafficking in skeletal muscle;*

**Cell Death and Differentiation**, 27:2383-2401 DOI: 10.1038/s41418-020-0510-7

Kuhn Jens H., Adkins Scott, Alioto Daniela, Alkhovsky Sergey V., Amarasinghe Gaya K., Anthony Simon J., Avsic-Zupanc Tatjana, Ayllon Maria A., Bahl Justin, Balkema-Buschmann Anne, Ballinger Matthew J., Bartonicka Tomas, Basler Christopher, Bavari Sina, Beer Martin, Bente Dennis A., Bergeron Eric, Bird Brian H., Blair Carol D., Blasdel Kim R., Bradfute Steven B., Breyta Rachel, Briese Michael, Brown Paul A....., Sironi Manuela, ....., Zhang Yong-Zhen, Zhou Guohui, Zhou Xueping (2020); 2020

*Taxonomic update for phylum negarnaviricota (riboviria: orthornavirae), including the large orders bunyavirales and mononegavirales;*

**Archives of Virology**, 165(12):3023-3072 DOI: 10.1007/s00705-020-04731-2

Mauri Maddalena, Grazioli Silvia, Crippa Alessandro, Bacchetta Andrea, Pozzoli Uberto, Bertella Silvana, Gatti Erika, Maggioni Eleonora, Rosi Eleonora, Diwadkar Vaibhav A., Brambilla Paolo, Molteni Massimo, Nobile Maria (2020);

*Hemodynamic and behavioral peculiarities in response to emotional stimuli in children with attention deficit hyperactivity disorder: an fnirs study;*

**Journal of Affective Disorders**, 277:671-680 DOI: 10.1016/j.jad.2020.08.064

Montagna Aldo\*, Vajente Nicola\*, Pendin Diana§, Daga Andrea§ (2020);

*In vivo analysis of crispr/cas9 induced atlastin pathological mutations in drosophila;*

**Frontiers in Neuroscience**, 14:547746 DOI: 10.3389/fnins.2020.547746

Mozzi Alessandra, Biolatti Matteo\*, Cagliani Rachele\*, Forni Diego\*, Dell'Oste Valentina, Pontremoli Chiara, Vantaggiato Chiara, Pozzoli Uberto, Clerici Mario, Landolfo Santo, Sironi Manuela (2020);

*Past and ongoing adaptation of human cytomegalovirus to its host;*

**Plos Pathogens**, 16(5):e100847 DOI: 10.1371/journal.ppat.1008476

Mozzi Alessandra, Forni Diego, Cagliani Rachele, Clerici Mario, Pozzoli Uberto, Sironi Manuela (2020);

*Intrinsically disordered regions are abundant in simplexvirus proteomes and display signatures of positive selection;*

**Virus Evolution**, 6(1): veaa028 DOI: 10.1093/ve/veaa028

Pozzi Marco, Bertella Silvana, Gatti Erika, Peeters Gabrielle, Carnovale Carla, Zambrano Stefania, Nobile Maria (2020);

Emerging drugs for the treatment of attention deficit hyperactivity disorder (adhd);

**Expert Opinion on Emerging Drugs**, 25(4):395-407 DOI: 10.1080/14728214.2020.1820481

Provenzi Livio, Grumi Serena, Giorda Roberto, Biasucci Giacomo, Bonini Renza, Cavallini Anna, Decembrino Lidia, Drera Bruno, Falcone Rossana, Fazzi Elisa, Gardella Barbara, Giaccherio Roberta, Nacinovich Renata, Pisoni Camilla, Prefumo Federico, Scelsa Barbara, Spartà Maria Valentina, Veggiotti Pierangelo, Orcesi Simona, Borgatti Renato,

*mom-cope study group (2020); measuring the outcomes of maternal covid-19-related prenatal exposure (mom-cope): study protocol for a multicentric longitudinal project;*

**BMJ Open**, 10(12): e044585 DOI: 10.1136/bmjopen-2020-044585

Rizzo Giovanni, Tonon Caterina, Gramegna Laura Ludovica, Bassi Maria Teresa, Lodi Raffaele, Liguori Rocco (2020);

*"eye of tiger sign" mimic in patients with spastic paraplegia gene 7 (spg7) mutations;*

**Parkinsonism and Related Disorders**, 81:158-160 DOI: 10.1016/j.parkreldis.2020.10.0

Rosi Eleonora, Grazioli Silvia, Villa Filippo Maria, Mauri Maddalena, Gazzola Erica, Pozzi Marco, Molteni Massimo, Nobile Maria (2020);

*Use of non-pharmacological supplementations in children and adolescents with attention deficit/hyperactivity disorder: a critical review;*

**Nutrients**, 12(6):E1573 DOI: 10.3390/nu12061573

Roux Thomas\*, Barbier Mathieu\*, Papin Melanie\*, Davoine Claire-Sophie, Sayah Sabrina, Coarelli Giulia, Charles Perrine, Marelli Cecilia, Parodi Livia, Tranchant Christine, Goizet Cyril, Klebe Stephan, Lohmann Ebba, Van Maldergem Lionel, Van Broeckhoven Christine, Coutelier Marie, Tesson Christelle, Stevanin Giovanni, Duyckaerts Charles, Brice Alexis, Durr Alexandra, SPATAX Network (Bassi Maria Teresa, Vavla Marinela) (2020);

*Clinical, neuropathological, and genetics characterization of stub1 variants in cerebellar ataxias: a frequent cause of predominant cognitive impairment;*

**Genetics in Medicine**, 22(11):1851-1862 DOI: 10.1038/s41436-020-0899-x

Severino Mariasavina\*, Pisciotta Livia\*, Tortora Domenico, Toselli Benedetta, Stagnaro Michela, Cordani Ramona, Morana Giovanni, Zicca Anna, Kotzeva Svetlana, Zanaboni Clelia, Montobbio Giovanni, Rossi Andrea, De Grandis Elisa, the IBAHC Consortium (Bassi Maria Teresa, Zucca Claudio) (2020);

*White matter and cerebellar involvement in alternating hemiplegia of childhood;*

**Journal of Neurology**, 267(5):1300-1311 DOI: 10.1007/s00415-020-09698-3

Sironi Manuela, Hasnain Seyed E., Rosenthal Benjamin, Phan Tung, Luciani Fabio, Shaw Marie-Anne, Sallum M. Anice, Mirhashemi Marzieh Ezzaty, Morand Serge, Gonzalez-Candelas Fernando on behalf of the Editors of Infection, Genetics and Evolution (2020);

*sars-cov-2 and covid-19: a genetic, epidemiological, and evolutionary perspective;*

**Infection, Genetics and Evolution**, 84:104384 DOI: 10.1016/j.meegid.2020.104384

Vavla Marinela, Arrigoni Filippo Silvio Aldo, Toschi Nicola, Peruzzo Denis, D'Angelo Maria Grazia, Gandossini Sandra, Russo Annamaria, Diella Eleonora, Tirelli Stefania, Salati Roberto, Rufini Alessandra, Condò Ivano, Testi Roberto, Martinuzzi Andrea (2020);

*Sensitivity of neuroimaging indicators in monitoring the effects of interferon gamma treatment in friedreich's ataxia;*

**Frontiers in Neuroscience**, 14:872

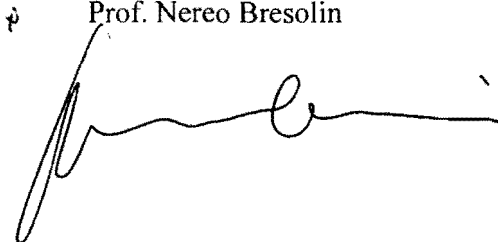
DOI: 10.3389/fnins.2020.00872

Vavla Marinela, D'Angelo Maria Grazia, Arrigoni Filippo Silvio Aldo, Toschi Nicola, Peruzzo Denis, Gandossini Sandra, Russo Annamaria, Diella Eleonora, Tirelli Stefania, Salati Roberto, Scarpazza Paolo, Luffarelli Riccardo, Fortuni Silvia, Rufini Alessandra, Condò Ivano, Testi Roberto, Martinuzzi Andrea (2020);

*Safety and efficacy of interferon  $\gamma$  in friedreich's ataxia;*

**Movement Disorders**, 35(2):370-371 DOI: 10.1002/mds.27979

“Centro Dino Ferrari”  
Il Coordinatore Scientifico  
Prof. Nereo Bresolin

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'N. Bresolin', written over a horizontal line.



## ELENCO PUBBLICAZIONI 2020

Alonso-Pérez J, González-Quereda L, Bello L, Guglieri M, Straub V, Gallano P, Semplicini C, Pegoraro E, Zangaro V, Nascimento A, Ortez C, Comi GP, Dam LT, De Visser M, van der Kooi AJ, Garrido C, Santos M, Schara U, Gangfuß A, Løkken N, Storgaard JH, Vissing J, Schoser B, Dekomien G, Udd B, Palmio J, D'Amico A, Politano L, Nigro V, Bruno C, Panicucci C, Sarkozy A, Abdel-Mannan O, Alonso-Jimenez A, Claeys KG, Gomez-Andrés D, Munell F, Costa-Comellas L, Haberlová J, Rohlenová M, Elke V, De Bleecker JL, Dominguez-González C, Tasca G, Weiss C, Deconinck N, Fernández-Torrón R, López de Munain A, Camacho-Salas A, Melegh B, Hadzsiev K, Leonardis L, Koritnik B, Garibaldi M, de Leon-Hernández JC, Malfatti E, Fraga-Bau A, Richard I, Illa I, Díaz-Manera

*J. New genotype-phenotype correlations in a large European cohort of patients with sarcoglycanopathy.*

**Brain.** 2020 Sep 1;143(9):2696-2708. doi: 10.1093/brain/awaa228. PMID: 32875335. **IF = 11,337**

Goemans N, Signorovitch J, Sajeev G, Yao Z, Gordish-Dressman H, McDonald CM, Vandenborne K, Miller D, Ward SJ, Mercuri E;

*Investigators from PRO-DMD-01 Study, CINRG DNHS, ImagingDMD, and the DMD Italian Group. Suitability of external controls for drug evaluation in Duchenne muscular dystrophy.*

**Neurology.** 2020 Sep 8;95(10):e1381-e1391. doi: 10.1212/WNL.00000000000010170. Epub 2020 Jul 1. PMID: 32611643; PMCID: PMC7538219. **IF = 8,055**

Magri F, Brusa R, Bello L, Peverelli L, Del Bo R, Govoni A, Cinnante C, Colombo I, Fortunato F, Tironi R, Corti S, Grimoldi N, Sciacco M, Bresolin N, Pegoraro E, Moggio M, Comi GP.

*Limb girdle muscular dystrophy due to LAMA2 gene mutations: new mutations expand the clinical spectrum of a still challenging diagnosis.*

**Acta Myol.** 2020 Jun 1;39(2):67-82. doi: 10.36185/2532-1900-009. PMID: 32904964; PMCID: PMC7460730.

Brusa R, Magri F, Bresolin N, Comi GP, Corti S. Noncoding RNAs in Duchenne and Becker muscular dystrophies:

*Limb girdle muscular and future prognostic and future prognostic and therapeutic perspectives.*

**Cell Mol Life Sci.** 2020 Nov;77(21):4299-4313. doi: 10.1007/s00018-020-03537-4. Epub 2020 Apr 29. PMID: 32350552. **IF = 6,496**

Telese R, Pagliarani S, Lerario A, Ciscato P, Fagiolari G, Cassandrini D, Grimoldi N, Conte G, Cinnante C, Santorelli FM, Comi GP, Sciacco M, Peverelli L.

*MYH2 myopathy, a new case expands the clinical and pathological spectrum of the recessive form.*

**Mol Genet Genomic Med.** 2020 Sep;8(9): e1320. doi: 10.1002/mgg3.1320. Epub 2020 Jun 24. PMID: 32578970; PMCID: PMC7507101. **IF = 2,797**

Bello L, D'Angelo G, Villa M, Fusto A, Vianello S, Merlo B, Sabbatini D, Barp A, Gandossini S, Magri F, Comi GP, Pedemonte M, Tacchetti P, Lanzillotta V, Trucco F, D'Amico A, Bertini E, Astrea G, Politano L, Masson R, Baranello G, Albamonte E, De Mattia E, Rao F, Sansone VA, Previtali S, Messina S, Vita GL, Berardinelli A, Mongini T, Pini A, Pane M, Mercuri E, Vianello A, Bruno C, Hoffman EP, Morgenroth L, Gordish-Dressman H, McDonald CM; CINRG-DNHS Investigators, Pegoraro E.

*Genetic modifiers of respiratory function in Duchenne muscular dystrophy.*

**Ann Clin Transl Neurol.** 2020 May;7(5):786-798. doi: 10.1002/acn3.51046. Epub 2020 Apr 28. PMID: 32343055; PMCID: PMC7261745. **IF = 4,870**

Neri M, Rossi R, TrabANELLI C, Mauro A, Selvatici R, Falzarano MS, Spedicato N, Margutti A, Rimessi P, Fortunato F, Fabris M, Gualandi F, Comi G, Tedeschi S, Seia M, Fiorillo C, Traverso M, Bruno C, Giardina E, Piemontese MR, Merla G, Cau M, Marica M, Scuderi C, Borgione E, Tessa A, Astrea G, Santorelli FM, Merlini L, Mora M, Bernasconi P, Gibertini S, Sansone V, Mongini T, Berardinelli A, Pini A, Liguori R, Filosto M, Messina S, Vita G, Toscano A, Vita G, Pane M, Servidei S, Pegoraro E, Bello L, Travaglini L, Bertini E, D'Amico A, Ergoli M, Politano L, Torella A, Nigro V, Mercuri E, Ferlini A.

*The Genetic Landscape of Dystrophin Mutations in Italy: A Nationwide Study.*

**Front Genet.** 2020 Mar 3;11:131. doi: 10.3389/fgene.2020.00131. PMID: 32194622; PMCID: PMC7063120. **IF = 3,789**

Montano V, Gruosso F, Carelli V, Comi GP, Filosto M, Lamperti C, Mongini T, Musumeci O, Servidei S, Tonin P, Toscano A, Modenese A, Primiano G, Valentino ML, Bortolani S, Marchet S, Meneri M, Tavilla G, Siciliano G, Mancuso M.

*Primary mitochondrial myopathy: Clinical features and outcome measures in 118 cases from Italy.*

**Neurol Genet.** 2020 Oct 20;6(6):e519. doi: 10.1212/NXG.0000000000000519. eCollection 2020 Dec. PMID: 33209982 Free PMC article. **IF = 3,509**

Ronchi D, Monfrini E, Bonato S, Mancinelli V, Cinnante C, Salani S, Bordoni A, Ciscato P, Fortunato F, Villa M, Di Fonzo A, Corti S, Bresolin N, Comi GP.

*Dystonia-ataxia syndrome with permanent torsional nystagmus caused by ECHS1 deficiency.*

**Ann Clin Transl Neurol.** 2020 May;7(5):839-845. doi: 10.1002/acn3.51025. Epub 2020 Apr 24. PMID: 32329585; PMCID: PMC7261751. **IF = 4,870**

Monfrini E, Ronchi D, Franco G, Garbellini M, Straniero L, Scola E, Arienti F, Duga S, Comi GP, Bresolin N, Di Fonzo A.

*Late-onset leukoencephalopathy in a patient with recessive EARS2 mutations.*

**Neurol Genet.** 2020 Jul 13;6(5):e488. doi: 10.1212/NXG.0000000000000488. PMID: 32802952; PMCID: PMC7413628. **IF = 3,509**

Brusa R, Mauri E, Dell'Arti L, Magri F, Ronchi D, Minorini V, Mainetti C, Gagliardi D, Faravelli I, Meneri M, Bresolin N, Viola F, Corti S, Comi GP.

*Expanding the clinical spectrum of the mitochondrial mutation A13084T in the ND5 gene.*

**Neurol Genet.** 2020 Sep 15;6(5): e511. doi: 10.1212/NXG.0000000000000511. PMID: 33062892; PMCID: PMC7524578. **IF = 3,509**

Ronchi D, Caporali L, Manenti GF, Meneri M, Mohamed S, Bordoni A, Tagliavini F, Contin M, Piga D, Sciacco M, Saetti C, Carelli V, Comi GP.

*TYMP Variants Result in Late-Onset Mitochondrial Myopathy With Altered Muscle Mitochondrial DNA Homeostasis.*

**Front Genet.** 2020 Aug 5;11:860. doi: 10.3389/fgene.2020.00860. PMID: 32849836; PMCID: PMC7419576. **IF = 3,789**

Pagliarani S, Lucchiari S, Scarlato M, Redaelli E, Modoni A, Magri F, Fossati B, Previtali SC, Sansone VA, Lecchi M, Lo Monaco M, Meola G, Comi GP.

*Sodium Channel Myotonia Due to Novel Mutations in Domain I of Nav1.4.*

**Front Neurol.** 2020 Apr 29;11:255. doi: 10.3389/fneur.2020.00255. PMID: 32411069; PMCID: PMC7201054. **IF = 3,552**

- Bellotti AS, Andreoli L, Ronchi D, Bresolin N, Comi GP, Corti S.  
*Molecular Approaches for the Treatment of Pompe Disease.*  
**Mol Neurobiol.** 2020 Feb;57(2):1259-1280. doi: 10.1007/s12035-019-01820-5. Epub 2019 Nov 12. PMID: 31713816. **IF = 4,856**
- Muntoni F, Bertini E, Comi G, Kirschner J, Lusakowska A, Mercuri E, Scoto M, van der Pol WL, Vuillerot C, Burdeska A, El-Khairi M, Fontoura P, Ives J, Gorni K, Reid C, Fuerst-Recktenwald S;  
*Long-term follow-up of patients with type 2 and non-ambulant type 3 spinal muscular atrophy (SMA) treated with olesoxime in the OLEOS trial. OLEOS Study Group.*  
**Neuromuscul Disord.** 2020 Dec;30(12):959-969. doi: 10.1016/j.nmd.2020.10.008. Epub 2020 Nov 5. PMID: 33246887. **IF = 2,638**
- Maggi L, Bello L, Bonanno S, Govoni A, Caponnetto C, Passamano L, Grandis M, Trojsi F, Cerri F, Ferraro M, Bozzoni V, Caumo L, Piras R, Tanel R, Sacconi E, Meneri M, Vacchiano V, Ricci G, Soraru' G, D'Errico E, Tramacere I, Bortolani S, Pavesi G, Zanin R, Silvestrini M, Politano L, Schenone A, Previtali SC, Berardinelli A, Turri M, Verriello L, Coccia M, Mantegazza R, Liguori R, Filosto M, Marrosu G, Siciliano G, Simone IL, Mongini T, Comi G, Pegoraro E.  
*Nusinersen safety and effects on motor function in adult spinal muscular atrophy type 2 and 3.*  
**J Neurol Neurosurg Psychiatry.** 2020 Nov;91(11):1166-1174. doi: 10.1136/jnnp-2020-323822. Epub 2020 Sep 11. PMID: 32917822. **IF = 8,234**
- Barp A, Carraro E, Albamonte E, Salmin F, Lunetta C, Comi GP, Messina C, Albano D, Chianca V, Sconfienza LM, Mercuri EM, Sansone VA.  
*Muscle MRI in two SMA patients on nusinersen treatment: A two years follow-up.*  
**J Neurol Sci.** 2020 Oct 15;417:117067. doi: 10.1016/j.jns.2020.117067. Epub 2020 Jul 29. PMID: 32745721 Free PMC article. **IF = 3,115**
- Brogna C, Cristiano L, Verdolotti T, Pichiecchio A, Cinnante C, Sansone V, Sconfienza LM, Berardinelli A, Garibaldi M, Antonini G, Pane M, Pera MC, Antonaci L, Ficociello L, Albamonte E, Tasca G, Begliuomini C, Tartaglione T, Maggi L, Govoni A, Comi G, Colosimo C, Mercuri E.  
*MRI patterns of muscle involvement in type 2 and 3 spinal muscular atrophy patients.*  
**J Neurol.** 2020 Apr;267(4):898-912. doi: 10.1007/s00415-019-09646-w. Epub 2019 Nov 27. PMID: 31776722. **IF = 3,783**
- Dewan R, Chia R, Ding J, Hickman RA, Stein TD, Abramzon Y, Ahmed S, Sabir MS, Portley MK, Tucci A, Ibáñez K, Shankaracharya FNU, Keagle P, Rossi G, Caroppo P, Tagliavini F, Waldo ML, Johansson PM, Nilsson CF; American Genome Center (TAGC); FALS Sequencing Consortium; Genomics England Research Consortium; International ALS/FTD Genomics Consortium (iAFGC); International FTD Genetics Consortium (IFGC); International LBD Genomics Consortium (iLBDGC); NYGC ALS Consortium; PROSPECT Consortium, Rowe JB, Benussi L, Binetti G, Ghidoni R, Jabbari E, Viollet C, Glass JD, Singleton AB, Silani V, Ross OA, Ryten M, Torkamani A, Tanaka T, Ferrucci L, Resnick SM, Pickering-Brown S, Brady CB, Kowal N, Hardy JA, Van Deerlin V, Vonsattel JP, Harms MB, Morris HR, Ferrari R, Landers JE, Chiò A, Gibbs JR, Dalgard CL, Scholz SW, Traynor BJ.  
*Pathogenic Huntingtin Repeat Expansions in Patients with Frontotemporal Dementia and Amyotrophic Lateral Sclerosis.*

**Neuron.** 2020 Nov 26; S0896-6273(20)30883-7. doi: 10.1016/j.neuron.2020.11.005. Epub ahead of print. PMID: 33242422. **IF = 14,403**

Villa D, Cinnante C, Valcamonica G, Manenti G, Lanfranconi S, Colombi A, Ghione I, Saetti MC, D'Amico M, Bonato S, Bresolin N, Comi GP, Ronchi D.

*Hereditary hemorrhagic telangiectasia associated with cortical development malformation due to a start loss mutation in ENG. BMC*

**Neurol.** 2020 Aug 26;20(1):316. doi: 10.1186/s12883-020-01890-2. PMID: 32847536; PMCID: PMC7450577. **IF = 2,356**

Costamagna G, Meneri M, Abati E, Brusa R, Velardo D, Gagliardi D, Mauri E, Cinnante C, Bresolin N, Comi G, Corti S, Faravelli I.

*Hyperacute extensive spinal cord infarction and negative spine magnetic resonance imaging: a case report and review of the literature.*

**Medicine** (Baltimore). 2020 Oct 23;99(43):e22900. doi: 10.1097/MD.00000000000022900. PMID: 33120840; PMCID: PMC7581089. **IF = 2,331**

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

*Management of patients with neuromuscular disorders at the time of the SARS-CoV-2 pandemic.*

**J Neurol.** 2020 Aug 17:1–12. doi: 10.1007/s00415-020-10149-2. Epub ahead of print. PMID: 32804279; PMCID: PMC7429942. **IF = 3,783**

Abati E, Gagliardi D, Velardo D, Meneri M, Conte G, Cinnante C, Bresolin N, Comi G, Corti S.

*Herpes Simplex virus type 2 myeloradiculitis with a pure motor presentation in a liver transplant recipient.*

**Transpl Infect Dis.** 2020 Feb;22(1): e13236. doi: 10.1111/tid.13236. Epub 2020 Jan 1. PMID: 31868290. **IF = 2,071**

Velardo D, Faravelli I, Cinnante C, Moggio M, Comi GP.

*Pediatric anti-HMGCR necrotizing myopathy: diagnostic challenges and literature review.*

**Neurol Sci.** 2020 Oct;41(10):3009-3013. doi: 10.1007/s10072-020-04491-6. Epub 2020 Jun 1. PMID: 32488450 No abstract available. **IF = 1,447**

Conte G, Avignone S, Carbonara M, Meneri M, Ortolano F, Cinnante C, Triulzi F. **AJNR**

*COVID-19-Associated PRES-like Encephalopathy with Perivascular Gadolinium Enhancement.*

**Am J Neuroradiol.** 2020 Dec;41(12):2206-2208. doi: 10.3174/ajnr. A6762. Epub 2020 Aug 13. PMID: 32816769. **IF = 3,653**

Campbell C, Barohn RJ, Bertini E, Chabrol B, Comi GP, Darras BT, Finkel RS, Flanigan KM, Goemans N, Iannaccone ST, Jones KJ, Kirschner J, Mah JK, Mathews KD, McDonald CM, Mercuri E, Nevo Y, Péron Y, Renfro JB, Ryan MM, Sampson JB, Schara U, Sejersen T, Selby K, Tulinius M, Vélchez JJ, Voit T, Wei LJ, Wong BL, Elfring G, Souza M, McIntosh J, Trifillis P, Peltz SW, Muntoni F; PTC124-GD-007-DMD Study Group; ACT DMD

*Study Group; Clinical Evaluator Training Groups. Meta-analyses of ataluren randomized controlled trials in nonsense mutation Duchenne muscular dystrophy.*

**J Comp Eff Res.** 2020 Oct;9(14):973-984. doi: 10.2217/ce-2020-0095. Epub 2020 Aug 27. PMID: 32851872. **IF = 2,268**

Brusa R, Magri F, Bresolin N, Comi GP, Corti S.



*Noncoding RNAs in Duchenne and Becker muscular dystrophies: role in pathogenesis and future prognostic and therapeutic perspectives.*

**Cell Mol Life Sci.** 2020 Nov;77(21):4299-4313. doi: 10.1007/s00018-020-03537-4. Epub 2020 Apr 29. PMID: 32350552. IF = 6,496

Mishra V, Re DB, Le Verche V, Alvarez MJ, Vasciaveo A, Jacquier A, Doulias PT, Greco TM, Nizzardo M, Papadimitriou D, Nagata T, Rinchetti P, Perez-Torres EJ, Politi KA, Ikiz B, Clare K, Than ME, Corti S, Ischiropoulos H, Lotti F, Califano A, Przedborski S.

*Systematic elucidation of neuron-astrocyte interaction in models of amyotrophic lateral sclerosis using multi-modal integrated bioinformatics workflow.*

**Nat Commun.** 2020 Nov 4;11(1):5579. doi: 10.1038/s41467-020-19177-y. PMID: 33149111; PMCID: PMC7642391.

De Gioia R, Citterio G, Abati E, Nizzardo M, Bresolin N, Comi GP, Corti S, Rizzo F.

*Animal Models of CMT2A: State-of-art and Therapeutic Implications.*

**Mol Neurobiol.** 2020 Dec;57(12):5121-5129. doi: 10.1007/s12035-020-02081-3. Epub 2020 Aug 27. PMID: 32856204; PMCID: PMC7541381.

De Gioia R, Biella F, Citterio G, Rizzo F, Abati E, Nizzardo M, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

*Neural Stem Cell Transplantation for Neurodegenerative Diseases.*

**Int J Mol Sci.** 2020 Apr 28;21(9):3103. doi: 10.3390/ijms21093103. PMID: 32354178; PMCID: PMC7247151.

Loffreda A, Nizzardo M, Arosio A, Ruepp MD, Calogero RA, Volinia S, Galasso M, Bendotti C, Ferrarese C, Lunetta C, Rizzuti M, Ronchi AE, Mühlemann O, Tremolizzo L, Corti S, Barabino SML.

*miR-129-5p: A key factor and therapeutic target in amyotrophic lateral sclerosis.*

**Prog Neurobiol.** 2020 Jul;190:101803. doi: 10.1016/j.pneurobio.2020.101803. Epub 2020 Apr 24. PMID: 32335272.

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

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

**Cell Mol Life Sci.** 2020 Sep;77(17):3351-3367. doi: 10.1007/s00018-020-03492-0. Epub 2020 Mar 2. PMID: 32123965.

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

*Synaptotagmin 13 is neuroprotective across motor neuron diseases.*

**Acta Neuropathol.** 2020 May;139(5):837-853. doi: 10.1007/s00401-020-02133-x. Epub 2020 Feb 17. PMID: 32065260; PMCID: PMC7181443.

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

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

**J Cell Mol Med.** 2020 Jan;24(2):1169-1178. doi: 10.1111/jcmm.14874. Epub 2019 Dec 4. PMID: 31802621; PMCID: PMC6991628.

Faravelli I, Corti S.

*Spinal muscular atrophy - challenges in the therapeutic era.*

**Nat Rev Neurol.** 2020 Dec;16(12):655-656. doi: 10.1038/s41582-020-00411-6. PMID: 32918067.

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

*Extracellular vesicles and amyotrophic lateral sclerosis: from misfolded protein vehicles to promising clinical biomarkers.*

**Cell Mol Life Sci.** 2020 Aug 16. doi: 10.1007/s00018-020-03619-3. Epub ahead of print. PMID: 32803397.

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

*Glial cells involvement in spinal muscular atrophy: Could SMA be a neuroinflammatory disease?*

**Neurobiol Dis.** 2020 Jul;140:104870. doi: 10.1016/j.nbd.2020.104870.

Epub 2020 Apr 12. PMID: 32294521.

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

*Silence superoxide dismutase 1 (SOD1): a promising therapeutic target for amyotrophic lateral sclerosis (ALS).*

**Expert Opin Ther Targets.** 2020 Apr;24(4):295-310. doi: 10.1080/14728222.2020.1738390.

Epub 2020 Mar 14. PMID: 32125907.

Faravelli I, Meneri M, Saccomanno D, Velardo D, Abati E, Gagliardi D, Parente V, Petrozzi L, Ronchi D, Stocchetti N, Calderini E, D'Angelo G, Chidini G, Prandi E, Ricci G, Siciliano G, Bresolin N, Comi GP, Corti S, Magri F, Govoni A.

*Nusinersen treatment and cerebrospinal fluid neurofilaments: An explorative study on Spinal Muscular Atrophy type 3 patients.*

**J Cell Mol Med.** 2020 Mar;24(5):3034-3039. doi: 10.1111/jcmm.14939. Epub 2020 Feb 7. PMID: 32032473; PMCID: PMC7077557.

Faravelli I, Costamagna G, Tamanini S, Corti S.

*Back to the origins: Human brain organoids to investigate neurodegeneration.*

**Brain Res.** 2020 Jan 15;1727:146561. doi: 10.1016/j.brainres.2019.146561. Epub 2019 Nov 20. PMID: 31758922.

20. Gagliardi D, Costamagna G, Taiana M, Andreoli L, Biella F, Bersani M, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

*Insights into disease mechanisms and potential therapeutics for C9orf72-related amyotrophic lateral sclerosis/frontotemporal dementia.*

**Ageing Res Rev.** 2020 Dec;64:101172. doi: 10.1016/j.arr.2020.101172. Epub 2020 Sep 22. PMID: 32971256.

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

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

**Hum Mutat.** 2020 Jan;41(1):17-37.

doi: 10.1002/humu.23899. Epub 2019 Sep 15. PMID: 31448844

IF: 4,124

Mantero V, Rifino N, Costantino G, Farina A, Pozzetti U, Sciacco M, Ripolone M, Bianchi G, Salmaggi A, Rigamonti A.

*Non-alcoholic beriberi, Wernicke encephalopathy and long-term eating disorder: case report and a mini-review.*

**Eat Weight Disord.** 2020 Mar 4.

doi: 10.1007/s40519-020-00880-0. Online ahead of print. PMID: 32130681 IF: 3,634

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

*Value of insoluble PABPN1 accumulation in the diagnosis of oculopharyngeal muscular dystrophy.*

**Eur J Neurol.** 2020 Apr;27(4):709-715.

doi: 10.1111/ene.14131. Epub 2019 Dec 15.PMID: 31769567

IF: 4,516

Nikolic A, Jones TI, Govi M, Mele F, Maranda L, Sera F, Ricci G, Ruggiero L, Vercelli L, Portaro S, Villa L, Fiorillo C, Maggi L, Santoro L, Antonini G, Filosto M, Moggio M, Angelini C, Pegoraro E, Berardinelli A, Maioli MA, D'Angelo G, Di Muzio A, Siciliano G, Tomelleri G, D'Esposito M, Della Ragione F, Brancaccio A, Piras R, Rodolico C, Mongini T, Magdinier F, Salsi V, Jones PL, Tupler R.

*Interpretation of the Epigenetic Signature of Facioscapulohumeral Muscular Dystrophy in Light of Genotype-Phenotype Studies.*

**Int J Mol Sci.** 2020 Apr 10;21(7):2635.

doi: 10.3390/ijms21072635.PMID: 32290091 Free PMC article.

IF: 4,556

Ruggiero L, Mele F, Manganelli F, Bruzzese D, Ricci G, Vercelli L, Govi M, Vallarola A, Tripodi S, Villa L, Di Muzio A, Scarlato M, Bucci E, Antonini G, Maggi L, Rodolico C, Tomelleri G, Filosto M, Previtali S, Angelini C, Berardinelli A, Pegoraro E, Moggio M, Mongini T, Siciliano G, Santoro L, Tupler R.

*Phenotypic Variability Among Patients With D4Z4 Reduced Allele Facioscapulohumeral Muscular Dystrophy.*

**JAMA Netw Open.** 2020 May 1;3(5):e204040.

doi: 10.1001/jamanetworkopen.2020.4040.PMID: 32356886 Free PMC article.

IF: 5,032

Mauri E, Abati E, Musumeci O, Rodolico C, D'Angelo MG, Mirabella M, Lucchini M, Bello L, Pegoraro E, Maggi L, Manneschi L, Gemelli C, Grandis M, Zuppa A, Massucco S, Benedetti L, Caponnetto C, Schenone A, Prella A, Previtali SC, Scarlato M, D'Amico A, Bertini E, Pennisi EM, De Giglio L, Pane M, Mercuri E, Mongini T, Ricci F, Berardinelli A, Astrea G, Lenzi S, Battini R, Ricci G, Torri F, Siciliano G, Santorelli FM, Ariatti A, Filosto M, Passamano L, Politano L, Scutifero M, Tonin P, Fossati B, Panicucci C, Bruno C, Ravaglia S, Monforte M, Tasca G, Ricci E, Petrucci A, Santoro L, Ruggiero L, Barp A, Albamonte E, Sansone V, Gagliardi D, Costamagna G, Govoni A, Magri F, Brusa R, Velardo D, Meneri M, Sciacco M, Corti S, Bresolin N, Moroni I, Messina S, Di Muzio A, Nigro V, Liguori R, Antonini G, Toscano A, Minetti C, Comi GP.

A 5-year clinical follow-up study from the Italian National Registry for FSHD.

*Estimating the impact of COVID-19 pandemic on services provided by Italian Neuromuscular Centers: an Italian Association of Myology survey of the acute phase.*

**Italian Association of Myology. Acta Myol.** 2020 Jun 1;39(2):57-66.

doi: 10.36185/2532-1900-008. eCollection 2020 Jun.PMID: 32904925 Free PMC article.

IF: -

Vercelli L, Mele F, Ruggiero L, Sera F, Tripodi S, Ricci G, Vallarola A, Villa L, Govi M, Maranda L, Di Muzio A, Scarlato M, Bucci E, Maggi L, Rodolico C, Moggio M, Filosto M, Antonini G, Previtali S, Angelini C, Berardinelli A, Pegoraro E, Siciliano G, Tomelleri G, Santoro L, Mongini T, Tupler R.

*Phenotypic Variability Among Patients With D4Z4 Reduced Allele Facioscapulohumeral Muscular Dystrophy*

**J Neurol.** 2020 Aug 19.

doi: 10.1007/s00415-020-10144-7. Online ahead of print.PMID: 32813049

IF: 3,956

Giovarelli M, Zecchini S, Martini E, Garrè M, Barozzi S, Ripolone M, Napoli L, Coazzoli M, Vantaggiato C, Roux-Biejat P, Cervia D, Moscheni C, Perrotta C, Parazzoli D, Clementi E, De Palma C.

*Drp1 overexpression induces desmin disassembling and drives kinesin-1 activation promoting mitochondrial trafficking in skeletal muscle.*

**Cell Death Differ.** 2020 Aug;27(8):2383-2401.

doi: 10.1038/s41418-020-0510-7. Epub 2020 Feb 10.PMID: 32042098 Free PMC article.

IF: 10,717

Peverelli L, De Rosa A, Domina E, Ciscato P, Sita G, Velardo D, Comi GP.

*Severe inflammatory myopathy in a pulmonary carcinoma patient treated with Pembrolizumab: An alert for myologists.*

**J Neuromuscul Dis.** 2020;7(4):511-514. doi: 10.3233/JND-200504. IF:-

Ricci G, Mele F, Govi M, Ruggiero L, Sera F, Vercelli L, Bettio C, Santoro L, Mongini T, Villa L, Moggio M, Filosto M, Scarlato M, Previtali SC, Tripodi SM, Pegoraro E, Telese R, Di Muzio A, Rodolico C, Bucci E, Antonini G, D'Angelo MG, Berardinelli A, Maggi L, Piras R, Maioli MA, Siciliano G, Tomelleri G, Angelini C, Tupler R.

*Large genotype-phenotype study in carriers of D4Z4 borderline alleles provides guidance for facioscapulohumeral muscular dystrophy diagnosis.*

**Sci Rep.** 2020 Dec 10;10(1):21648. doi: 10.1038/s41598-020-78578-7.

PMID: 33303865 Free PMC article.

Leurs CE, Twaalfhoven H, Lissenberg-Witte BI, van Pesch V, Dujmovic I, Drulovic J, Castellazzi M, Bellini T, Pugliatti M, Kuhle J, Villar LM, Alvarez-Cermeño JC, Alvarez-Lafuente R, Hegen H, Deisenhammer F, Walchhofer LM, Thouvenot E, Comabella M, Montalban X, Vécsei L, Rajda C, Galimberti D, Scarpini E, Altintas A, Rejdak K, Frederiksen JL, Pihl-Jensen G, Jensen P, Khalil M, Voortman MM, Fazekas F, Saiz A, La Puma D, Vercammen M, Vanopdenbosch L, Uitdehaag B, Killestein J, Bridel C, Teunissen C.

*Kappa free light chains is a valid tool in the diagnostics of MS: A large multicenter study.*

**Multiple Sclerosis** 2020 26(8):912-23. IF=5,412

Pietroboni AM, Schiano di Cola F, Colombi A, Carandini T, Fenoglio C, Ghezzi L, De Riz MA, Triulzi F, Scarpini E, Padovani A, Galimberti D.

*CSF  $\beta$ -amyloid predicts early cerebellar atrophy and is associated with a poor prognosis in multiple sclerosis.*

**Mult Scler Relat Disord.** 2020; 37:101462. IF=2,889

Rubino E, Di Stefano M, Galimberti D, Serpente M, Scarpini E, Fenoglio C, Bo M, Rainero I. *C9ORF72 hexanucleotide repeat expansion frequency in patients with Paget's disease of bone.*

**Neurobiology of Aging** 2020;85:154.e1-154.e3. IF=4,347

Heller C, Foiani MS, Moore K, Convery R, Bocchetta M, Neason M, Cash DM, Thomas D, Greaves CV, Woollacott IO, Shafei R, Van Swieten JC, Moreno F, Sanchez-Valle R, Borroni B, Laforce R Jr, Masellis M, Tartaglia MC, Graff C, Galimberti D, Rowe JB, Finger E,

Synofzik M, Vandenberghe R, de Mendonca A, Tagliavini F, Santana I, Ducharme S, Butler CR, Gerhard A, Levin J, Danek A, Frisoni G, Sorbi S, Otto M, Heslegrave AJ, Zetterberg H, Rohrer JD;

*GENFI. Plasma glial fibrillary acidic protein is raised in progranulin-associated frontotemporal dementia.*

**J Neurol Neurosurg Psychiatry** 2020; 91(3):263-70. IF=8,263

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

*A case of Bipolar Disorder developing into an Atypical Parkinsonism and presenting with Frontotemporal Asymmetrical Brain Degeneration. A TREDEM Registry Case Report.*

**Bipolar Disord.** 2020 22(2):201-3. IF=5,410

Moore KM, Nicholas J, Grossman M, McMillan CT, Irwin DJ, Massimo L, Van Deerlin VM, Warren JD, Fox NC, Rossor MN, Mead S, Bocchetta M, Boeve BF, Knopman DS, Graff-Radford NR, Forsberg LK, Rademakers R, Wszolek ZK, van Swieten JC, Jiskoot LC, Meeter LH, Doppler EG, Papma JM, Snowden JS, Saxon J, Jones M, Pickering-Brown S, Le Ber I, Camuzat A, Brice A, Caroppo P, Ghidoni R, Pievani M, Benussi L, Binetti G, Dickerson BC, Lucente D, Krivensky S, Graff C, Öijersted L, Fallström M, Thonberg H, Ghoshal N, Morris JC, Borroni B, Benussi A, Padovani A, Galimberti D, Scarpini E, Fumagalli GG, Mackenzie IR, Hsiung GR, Sengdy P, Boxer AL, Rosen H, Taylor JB, Synofzik M, Wilke C, Sulzer P, Hodges JR, Halliday G, Kwok J, Sanchez-Valle R, Lladó A, Borrego-Ecija S, Santana I, Almeida MR, Tábuas-Pereira M, Moreno F, Barandiaran M, Indakoetxea B, Levin J, Danek A, Rowe JB, Cope TE, Otto M, Anderl-Straub S, de Mendonça A, Maruta C, Masellis M, Black SE, Couratier P, Lautrette G, Huey ED, Sorbi S, Nacmias B, Laforce R Jr, Tremblay ML, Vandenberghe R, Damme PV, Rogalski EJ, Weintraub S, Gerhard A, Onyike CU, Ducharme S, Papageorgiou SG, Lyn AS, Brodtmann A, Finger E, Guerreiro R, Bras J, Rohrer JD;

*FTD Prevention Initiative. Age at symptom onset and death and disease duration in genetic frontotemporal dementia: an international retrospective cohort study.*

**Lancet Neurol** 2020;19(2):145-56. IF=30,039

Rosas I, Martínez C, Clarimón J, Lleó A, Illán-Gala I, Dols-Icardo O, Borroni B, Almeida MR, van der Zee J, Van Broeckhoven C, Bruni AC, Anfossi M, Bernardi L, Maletta R, Serpente M, Galimberti D, Scarpini E, Rossi G, Caroppo P, Benussi L, Ghidoni R, Binetti G, Nacmias B, Sorbi S, Piaceri I, Bagnoli S, Antonell A, Sánchez-Valle R, De la Casa-Fages B, Grandas F, Diez-Fairen M, Pastor P, Ferrari R, Álvarez V, Menéndez-González M.

*Role for ATXN1, ATXN2, and HTT intermediate repeats in frontotemporal dementia and Alzheimer's disease.*

**Neurobiol Aging** 2020;87:139.e1-139.e7. IF=4,347

Gallucci M, Pallucca C, Di Battista ME, Bergamelli C, Fiore V, Boccaletto F, Fiorini M, Perra D, Zanusso G, Fenoglio C, Serpente M, Galimberti D, Bonanni L.

*Anti-Cholinergic Derangement of Cortical Metabolism on 18F-FDG PET in a Patient with Frontotemporal Lobar Degeneration Dementia: A Case of the TREDEM Registry.*

**J Alzheimers Dis.** 2020;74(4):1107-17IF=3,909

Ducharme S, Dols A, Laforce R, Devenney E, Kumfor F, van den Stock J, Dallaire-Thérout C, Seelaar H, Gossink F, Vijverberg E, Huey E, Vandenbulcke M, Masellis M, Trieu C, Onyike C, Caramelli P, de Souza LC, Santillo A, Waldö ML, Landin-Romero R, Piguet O, Kelso W, Eratne D, Velakoulis D, Ikeda M, Perry D, Pressman P, Boeve B, Vandenberghe R, Mendez M, Azuar C, Levy R, Le Ber I, Baez S, Lerner A, Ellayosyula R, Pasquier F,

Galimberti D, Scarpini E, van Swieten J, Hornberger M, Rosen H, Hodges J, Diehl-Schmid J, Pijnenburg Y.

*Recommendations to distinguish behavioural variant frontotemporal dementia from psychiatric disorders.*

**Brain** 2020 143(6):1632-50. IF=11,337

Carlini V, Verduci I, Cianci F, Cannavale G, Fenoglio C, Galimberti D, Mazzanti M. CLIC1 Protein Accumulates in Circulating Monocyte Membrane during Neurodegeneration.

**Int J Mol Sci** 2020; 21(4):1484 IF=4,556

Costa B, Manzoni C, Bernal-Quiros M, Kia DA, Aguilar M, Alvarez I, Alvarez V, Andreassen O, Anfossi M, Bagnoli S, Benussi L, Bernardi L, Binetti G, Blackburn D, Boada M, Borroni B, Bowns L, Bråthen G, Bruni AC, Chiang HH, Clarimon J, Colville S, Conidi ME, Cope TE, Cruchaga C, Cupidi C, Di Battista ME, Diehl-Schmid J, Diez-Fairen M, Dols-Icardo O, Durante E, Flisar D, Frangipane F, Galimberti D, Gallo M, Gallucci M, Ghidoni R, Graff C, Grafman JH, Grossman M, Hardy J, Hernández I, Holloway GJ, Huey ED, Illán-Gala I, Karydas A, Khoshnood B, Kramberger MG, Kristiansen M, Lewis PA, Lleó A, Madhan GK, Maletta R, Maver A, Menendez-Gonzalez M, Milan G, Miller B, Mol MO, Momeni P, Moreno-Grau S, Morris CM, Nacmias B, Nilsson C, Novelli V, Öijerstedt L, Padovani A, Pal S, Panchbhaya Y, Pastor P, Peterlin B, Piaceri I, Pickering-Brown S, Pijnenburg YA, Puca AA, Rainero I, Rendina A, Richardson AM, Rogaeva E, Rogelj B, Rollinson S, Rossi G, Rossmeier C, Rowe JB, Rubino E, Ruiz A, Sanchez-Valle R, Sando SB, Santillo AF, Saxon J, Scarpini E, Serpente M, Smirne N, Sorbi S, Suh E, Tagliavini F, Thompson JC, Trojanowski JQ, Van Deerlin VM, Van der Zee J, Van Broeckhoven C, van Rooij J, Van Swieten JC, Veronesi A, Vitale E, Waldö ML, Woodward C, Yokoyama J, Escott-Price V, Polke JM, Ferrari R;

*International FTD-Genetics Consortium (IFGC).C9orf72, AAO and ancestry help discriminating behavioural from language variants in FTL D cohorts.*

**Neurology** 2020; 95(24):e3288-e3302 IF=8,770

Pietroboni AM, Colombi A, Carandini T, Scarpini E, Galimberti D, Bozzali M.

*The Role of Amyloid- $\beta$  in White Matter Damage: Possible Common Pathogenetic Mechanisms in Neurodegenerative and Demyelinating Diseases.*

**J Alzheimers Dis.** 2020; 78(1):13-22. IF=3,909

Scarioni M, Arighi A, Fenoglio C, Sorrentino F, Serpente M, Rotondo E, Mercurio M, Marotta G, Dijkstra AA, Pijnenburg YAL, Scarpini E, Galimberti D.

*Late-onset presentation and phenotypic heterogeneity of the rare R377W PSEN1 mutation.*

**Eur J Neurol.** 2020; 27(12):2630-4. IF=4,516

Tavares TP, Mitchell DGV, Coleman KK, Coleman BL, Shoesmith CL, Butler CR, Santana I, Danek A, Gerhard A, de Mendonca A, Borroni B, Tartaglia MC, Graff C, Galimberti D, Tagliavini F, Moreno F, Frisoni G, Rowe JB, Levin J, Van Swieten JC, Otto M, Synofzik M, Sanchez-Valle R, Vandenberghe R, Laforce RJ, Ghidoni R, Sorbi S, Ducharme S, Masellis M, Rohrer J, Finger E.

*Early symptoms in symptomatic and preclinical genetic frontotemporal lobar degeneration.*

**J Neurol Neurosurg Psychiatry.** 2020;91(9):975-84. IF=8,263

Convery RS, Bocchetta M, Greaves CV, Moore KM, Cash DM, Van Swieten J, Moreno F, Sánchez-Valle R, Borroni B, Laforce R Jr, Masellis M, Tartaglia MC, Graff C, Galimberti D, Rowe JB, Finger E, Synofzik M, Vandenberghe R, de Mendonca A, Tagliavini F, Santana I, Ducharme S, Butler C, Gerhard A, Levin J, Danek A, Otto M, Warren JD, Rohrer JD; Genetic FTD Initiative (GENFI).

*Abnormal pain perception is associated with thalamo-cortico-striatal atrophy in C9orf72 expansion carriers in the GENFI cohort.*

**J Neurol Neurosurg Psychiatry** 2020; 91(12):1325-8. IF=8,263

Gao Y, Wang T, Yu X; International FTD-Genomics Consortium (IFGC), Zhao H, Zeng P. *Mendelian randomization implies no direct causal association between leukocyte telomere length and amyotrophic lateral sclerosis.*

**Sci Rep.** 2020;10(1):12184.

IF=5,793

Serpente M, Fenoglio C, D'Anca M, Arcaro M, Sorrentino F, Visconte C, Arighi A, Fumagalli GG, Porretti L, Cattaneo A, Ciani M, Zanardini R, Benussi L, Ghidoni R, Scarpini E, Galimberti D.

*MiRNA Profiling in Plasma Neural-Derived Small Extracellular Vesicles from Patients with Alzheimer's Disease.*

**Cells** 2020;9(6):1443. IF=4,366

Saresella M, Marventano I, Piancone F, La Rosa F, Galimberti D, Fenoglio C, Scarpini E, Clerici M.

*IL-33 and its decoy sST2 in patients with Alzheimer's disease and mild cognitive impairment.*

**J Neuroinflammation.** 2020;17(1):174. IF=5,793

Carandini T, Pietroboni AM, Sacchi L, De Riz MA, Pozzato M, Arighi A, Fumagalli GG, Martinelli Boneschi F, Galimberti D, Scarpini E.

*Alemtuzumab in multiple sclerosis during the COVID-19 pandemic: A mild uncomplicated infection despite intense immunosuppression.*

**Multiple Sclerosis** 2020;26(10):1268-9 IF=5,412

Pietroboni AM, Carandini T, Dell'Arti L, Bovis F, Colombi A, De Riz MA, Casazza E, Scola E, Fenoglio C, Arighi A, Fumagalli GG, Triulzi F, Galimberti D, Viola F, Scarpini E.

*Evidence of retinal anterograde neurodegeneration in the very early stages of multiple sclerosis: a longitudinal OCT study.*

**Neurological Sciences** 2020; 41(11):3175-83. IF=2,415

Le Blanc G, Jetté Pomerleau V, McCarthy J, Borroni B, van Swieten J, Galimberti D, Sanchez-Valle R, LaForce R Jr, Moreno F, Synofzik M, Graff C, Masellis M, Tartaglia MC, Rowe JB, Vandenberghe R, Finger E, Tagliavini F, de Mendonça A, Santana I, Butler C, Gerhard A, Danek A, Levin J, Otto M, Frisoni G, Sorbi S, Rohrer JD, Ducharme S;

*BGenetic Frontotemporal Dementia Initiative (GENFI). Faster Cortical Thinning and Surface Area Loss in Presymptomatic and Symptomatic C9orf72 Repeat Expansion Adult Carriers.*

**Annals of Neurology** 2020;88(1):113-22 IF=9,037

Scarioni M, Gami-Patel P, Timar Y, Seelaar H, van Swieten JC, Rozemuller AJM, Dols A, Scarpini E, Galimberti D; Netherlands Brain Bank, Hoozemans JJM, Pijnenburg YAL, Dijkstra AA.

*Frontotemporal Dementia: Correlations Between Psychiatric Symptoms and Pathology.*

**Annals of Neurology** 2020;87(6):950-61 IF=9,037

van der Ende EL, Xiao M, Xu D, Poos JM, Panman JL, Jiskoot LC, Meeter LH, Doppler EG, Papma JM, Heller C, Convery R, Moore K, Bocchetta M, Neason M, Peakman G,

Cash DM, Teunissen CE, Graff C, Synofzik M, Moreno F, Finger E, Sánchez-Valle R, Vandenberghe R, Laforce R Jr, Masellis M, Tartaglia MC, Rowe JB, Butler CR, Ducharme S, Gerhard A, Danek A, Levin J, Pijnenburg YA, Otto M, Borroni B, Tagliavini F, de Mendonca A, Santana I, Galimberti D, Seelaar H, Rohrer JD, Worley PF, van Swieten JC; *Genetic Frontotemporal Dementia Initiative (GENFI). Neuronal pentraxin 2: a synapse-derived CSF biomarker in genetic frontotemporal dementia.*

**J Neurol Neurosurg Psychiatry.** 2020;91(6):612-621. IF=8,263

Demartini B, Invernizzi RW, Campiglio L, Bocci T, D'Arrigo A, Arighi A, Sciacca F, Galimberti D, Scarpini E, Gambini O, Priori A.

*Cerebrospinal fluid glutamate changes in functional movement disorders.*

**NPJ Parkinsons Dis.** 2020;6(1):37. IF=6,750

Bartesaghi F, Rosci CE, Rassiga C, Barbieri V, Gambini O, Floro S, D'Arrigo AM, Del Sole A, Scarpini EA, Galimberti D, Priori A.

*Psychiatric Disorders in Alzheimer Disease With the Presenilin-1 L226F Mutation. Cogn Behav*

**Neurol.** 2020;33(4):278-82. IF=0,750

Russell LL, Greaves CV, Bocchetta M, Nicholas J, Convery RS, Moore K, Cash DM, van Swieten J, Jiskoot L, Moreno F, Sanchez-Valle R, Borroni B, Laforce R Jr, Masellis M, Tartaglia MC, Graff C, Rotondo E, Galimberti D, Rowe JB, Finger E, Synofzik M, Vandenberghe R, de Mendonça A, Tagliavini F, Santana I, Ducharme S, Butler C, Gerhard A, Levin J, Danek A, Otto M, Warren JD, Rohrer JD; Genetic FTD Initiative, GENFI.

*Social cognition impairment in genetic frontotemporal dementia within the GENFI cohort.*

**Cortex** 2020;133: 384-98. IF=4,009

Fumagalli GG, Basilico P, Arighi A, Mercurio M, Scarioni M, Carandini T, Colombi A, Pietroboni AM, Sacchi L, Conte G, Scola E, Triulzi F, Scarpini E, Galimberti D.

*Parieto-occipital sulcus widening differentiates posterior cortical atrophy from typical Alzheimer disease.*

**Neuroimage Clin.** 2020 28:102453. IF=4,350

Toboso I, Tejada-Velarde A, Alvarez-Lafuente R, Arroyo R, Hegen H, Deisenhammer F, Sainz de la Maza S, Alvarez-Cermeño JC, Izquierdo G, Paramo D, Oliva P, Casanova B, Agüera-Morales E, Franciotta D, Gastaldi M, Fernández O, Urbaneja P, Garcia-Dominguez JM, Romero F, Laroni A, Uccelli A, Perez-Sempere A, Saiz A, Blanco Y, Galimberti D, Scarpini E, Espejo C, Montalban X, Rasche L, Paul F, González I, Álvarez E, Ramo C, Caminero AB, Aladro Y, Calles C, Eguía P, Belenguer-Benavides A, Ramió-Torrentà L, Quintana E, Martínez-Rodríguez JE, Oterino A, López de Silanes C, Casanova LI, Landete L, Frederiksen J, Bsteh G, Mulero P, Comabella M, Hernández MA, Espiño M, Prieto JM, Pérez D, Otano M, Padilla F, García-Merino JA, Navarro L, Muriel A, Frossard LC, Villar LM.

*New Algorithms Improving PML Risk Stratification in MS Patients Treated With Natalizumab.*

**Front Neurol.** 2020;11:579438. IF=2,889

Morandi A, Zambon A, Di Santo SG, Mazzone A, Cherubini A, Mossello E, Bo M, Marengoni A, Bellelli G; Italian Study Group on Delirium (ISGoD, including E. Scarpini).

*Understanding Factors Associated With Psychomotor Subtypes of Delirium in Older Inpatients With Dementia.*

**J Am Med Dir Assoc.** 2020;21(4):486-492.e7. IF=4,367



Butzkueven H, Kappos L, Wiendl H, Trojano M, Spelman T, Chang I, Kasliwal R, Jaitly S, Campbell N, Ho PR, Licata S; Tysabri Observational Program (TOP) Investigators (including E. Scarpini).

*Long-term safety and effectiveness of natalizumab treatment in clinical practice: 10 years of real-world data from the Tysabri Observational Program (TOP).*

**J Neurol Neurosurg Psychiatry.** 2020;91(6):660-8. IF=8,263

Pietroboni AM, Colombi A, Carandini T, Contarino VE, Ghezzi L, Fumagalli GG, Arighi A, Fenoglio C, De Riz MA, Triulzi F, Scarpini E, Galimberti D.

*Low CSF  $\beta$ -amyloid levels predict early regional grey matter atrophy in multiple sclerosis.*

**Mult Scler Relat Disord** 2020;39:101899 IF=2,889

Monfrini E, Tocco P, Bonato S, Tosi M, Melzi V, Frattini E, Franco G, Corti S, Comi GP, Bresolin N, Di Fonzo A.

*Expanding the genotypic and phenotypic spectrum of Beta-propeller protein-associated neurodegeneration.*

**Eur J Neurol.** 2020 Dec 12. doi: 10.1111/ene.14679.

Straniero L, Asselta R, Bonvegna S, Rimoldi V, Melistaccio G, Soldà G, Aureli M, Della Porta M, Lucca U, Di Fonzo A, Zecchinelli A, Pezzoli G, Cilia R, Duga S.

*The SPID-GBA study: Sex distribution, Penetrance, Incidence, and Dementia in GBA-PD.*

**Neurol Genet.** 2020 Oct 20;6(6):e523. doi: 10.1212/NXG.0000000000000523.

Regoni M, Cattaneo S, Mercatelli D, Novello S, Passoni A, Bagnati R, Davoli E, Croci L, Consalez GG, Albanese F, Zanetti L, Passafaro M, Serratto GM, Di Fonzo A, Valtorta F, Ciammola A, Taverna S, Morari M, Sassone J.

*Pharmacological antagonism of kainate receptor rescues dysfunction and loss of dopamine neurons in a mouse model of human parkin-induced toxicity.*

**Cell Death Dis.** 2020 Nov 10;11(11):963. doi: 10.1038/s41419-020-03172-8.

Manini A, Bocci T, Migazzi A, Monfrini E, Ronchi D, Franco G, De Rosa A, Sartucci F, Priori A, Corti S, Comi GP, Bresolin N, Basso M, Di Fonzo A.

*A case report of late-onset cerebellar ataxia associated with a rare p.R342W TGM6 (SCA35) mutation.*

**BMC Neurol.** 2020 Nov 7;20(1):408. doi: 10.1186/s12883-020-01964-1.

Crow YJ, Marshall H, Rice GI, Seabra L, Jenkinson EM, Baranano K, Battini R, Berger A, Blair E, Blauwblomme T, Bolduc F, Boddaert N, Buckard J, Burnett H, Calvert S, Caumes R, Ng AC, Chiang D, Clifford DB, Cordelli DM, de Burca A, Demic N, Desguerre I, De Waele L, Di Fonzo A, Dunham SR, Dyack S, Elmslie F, Ferrand M, Fisher G, Karimiani EG, Ghomid J, Gibbon F, Goel H, Hilmarsen HT, Hughes I, Jacob A, Jones EA, Kumar R, Leventer RJ, MacDonald S, Maroofian R, Mehta SG, Metz I, Monfrini E, Neumann D, Noetzel M, O'Driscoll M, Öunap K, Panzer A, Parikh S, Prabhakar P, Ramond F, Sandford R, Saneto R, Soh C, Stutterd CA, Subramanian GM, Talbot K, Thomas RH, Toro C, Touraine R, Wakeling E, Wassmer E, Whitney A, Livingston JH, O'Keefe RT, Badrock AP.

*Leukoencephalopathy with calcifications and cysts: Genetic and phenotypic spectrum.*

**Am J Med Genet A.** 2021 Jan;185(1):15-25. doi: 10.1002/ajmg.a.61907.

Straniero L, Rimoldi V, Melistaccio G, Di Fonzo A, Pezzoli G, Duga S, Asselta R.

*A rapid and low-cost test for screening the most common Parkinson's disease-related GBA variants.*

**Parkinsonism Relat Disord.** 2020 Nov;80:138-141. doi: 10.1016/j.parkreldis.2020.09.036. Epub 2020 Sep 22.

Di Rocco M, Di Fonzo A, Barbato A, Cappellini MD, Carubbi F, Giona F, Giuffrida G, Linari S, Pession A, Quarta A, Scarpa M, Spada M, Strisciuglio P, Andria G.

*Parkinson's disease in Gaucher disease patients: what's changing in the counseling and management of patients and their relatives?*

**Orphanet J Rare Dis.** 2020 Sep 23;15(1):262. doi: 10.1186/s13023-020-01529-y.

Lopez G, Lazzeri G, Rappa A, Isimbaldi G, Cribiù FM, Guerini-Rocco E, Ferrero S, Vaira V, Di Fonzo A.

*Comprehensive Genomic Analysis Reveals the Prognostic Role of LRRK2 Copy-Number Variations in Human Malignancies.*

**Genes** (Basel). 2020 Jul 24;11(8):846. doi: 10.3390/genes11080846.

Albanese A, Di Fonzo A, Fetoni V, Franzini A, Gennuso M, Molini G, Pacchetti C, Priori A, Riboldazzi G, Volonté MA, Calandrella D.

*Design and Operation of the Lombardy Parkinson's Disease Network.*

**Front Neurol.** 2020 Jun 26;11:573. doi: 10.3389/fneur.2020.00573.

Petrucchi S, Ginevrino M, Trezzi I, Monfrini E, Ricciardi L, Albanese A, Avenali M, Barone P, Bentivoglio AR, Bonifati V, Bove F, Bonanni L, Brusa L, Cereda C, Cossu G, Criscuolo C, Dati G, De Rosa A, Eleopra R, Fabbrini G, Fadda L, Garbellini M, Minafra B, Onofri M, Pacchetti C, Palmieri I, Pellicchia MT, Petraccia M, Picillo M, Pisani A, Valletlunga A, Zangaglia R, Di Fonzo A, Morgante F, Valente EM; ITA-GENE-PD Study Group.

*GBA-Related Parkinson's Disease: Dissection of Genotype-Phenotype Correlates in a Large Italian Cohort.*

**Mov Disord.** 2020 Nov;35(11):2106-2111. doi: 10.1002/mds.28195. Epub 2020 Jul 13.

Bitetto G, Di Fonzo A.

*Nucleo-cytoplasmic transport defects and protein aggregates in neurodegeneration.*

**Transl Neurodegener.** 2020 Jul 3;9(1):25. doi: 10.1186/s40035-020-00205-2.

Monzio Compagnoni G, Di Fonzo A, Corti S, Comi GP, Bresolin N, Masliah E.

*The Role of Mitochondria in Neurodegenerative Diseases: the Lesson from Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease.*

**Mol Neurobiol.** 2020 Jul;57(7):2959-2980. doi: 10.1007/s12035-020-01926-1.

**Microscopic Polyangiitis With Selective Involvement of Central and Peripheral Nervous System: A Case Report.** Arienti F, Franco G, Monfrini E, Santaniello A, Bresolin N, Saetti MC, Di Fonzo A. **Front Neurol.** 2020 Apr 28;11:269. doi: 10.3389/fneur.2020.00269.

Bonomo G, Monfrini E, Borellini L, Bonomo R, Arienti F, Saetti MC, Di Fonzo A, Locatelli M.

*Systemic involvement in adult-onset leukoencephalopathy with intracranial calcifications and cysts (Labrune syndrome) with a novel mutation of the SNORD118 gene.*

**Eur J Neurol.** 2020 Nov;27(11):2329-2332. doi: 10.1111/ene.14313.

PMID: 32400930

Bitetto G, Malaguti MC, Ceravolo R, Monfrini E, Straniero L, Morini A, Di Giacomo R, Frosini D, Palermo G, Biella F, Ronchi D, Duga S, Taroni F, Corti S, Comi GP, Bresolin N, Giometto B, Di Fonzo A.

*SLC25A46 mutations in patients with Parkinson's Disease and optic atrophy.*

**Parkinsonism Relat Disord.** 2020 May;74:1-5. doi: 10.1016/j.parkreldis.2020.03.018. Epub 2020 Apr 2.

Erro R, Di Fonzo A, Percetti M, Monfrini E, Scannapieco S, Picillo M, Barone P.  
*Childhood-onset dystonia with cerebellar signs: expanding the spectrum of GNAL mutations.*  
**Eur J Neurol.** 2020 Nov;27(11):e66-e67. doi: 10.1111/ene.14220. Epub 2020 Apr 3.

Clementina Sitzia, Mirella Meregalli, Marzia Belicchi, Andrea Farini, Maddalena Arosio, Denise Bestetti, Chiara Villa, Luca Valenti, Paolo Brambilla and Yvan Torrente  
*A Special Amino-Acid Formula Tailored to Boosting Cell Respiration Prevents Mitochondrial Dysfunction and Oxidative Stress Caused by Doxorubicin in Mouse Cardiomyocytes*  
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

**Nutrients**, 21 January 2020 | Volume 12 | Article 282 **I.F.: 4.546**

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

*Blockade of IGF2R improves muscle regeneration and ameliorates Duchenne muscular dystrophy*

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

**EMBO Molecular Medicine** 12: e11019 | 2020. **I.F.: 8.821**

Andrea Farini, Chiara Villa, Dario Di Silvestre, Pamela Bella, Luana Tripodi, Rossana Rossi, Clementina Sitzia, Stefano Gatti, Pierluigi Mauri and Yvan Torrente

*PTX3 Predicts Myocardial Damage and Fibrosis in 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

**Frontiers in Physiology** May 2020 | Volume 11 | Article 403 **I.F.: 3.367**

Davide Rovinaa, Elisa Castiglioni, Francesco Niroa, Andrea Farinib, Marzia Belicchi, Elisabetta Di Fede, Cristina Gervasini, Stefania Paganini, Marina Di Segni, Yvan Torrente, Rosaria Santoro, Giulio Pompilioa, Aoife Gowran

*Generation of the Becker muscular dystrophy patient derived induced pluripotent stem cell line carrying the DMD splicing mutation c.1705-8 T>C.*

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

**Stem Cell Research** 45 (2020) 101819 **I.F.: 4.489**

Avnika A. Ruparelia, Emily A. McKaige, Caitlin Williams, Keith E. Schulze, Margit Fuchs, Viola Oorschot, Emmanuelle Lacene, Mirella Meregalli, Clara Lee, Rita J. Serrano, Emily C. Baxter, Keyne Monroe, Yvan Torrente, Georg Ramm, Tanya Stojkovic, Josée N. Lavoie & Robert J. Bryson-Richardson

*Metformin rescues muscle function in BAG3 myofibrillar myopathy models*

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

**Autophagy** 1 October 2020 **I.F.: 9.770**

Yvan Torrente, Pamela Bella, Luana Tripodi, Chiara Villa and Andrea Farini  
*Role of Insulin-Like Growth Factor Receptor 2 across Muscle Homeostasis: Implications for Treating Muscular Dystrophy*

Stem Cell Laboratory, Department of Pathophysiology and Transplantation, University of Milan,

Unit of Neurology, Fondazione IRCCS Cà Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Dino Ferrari Center, 20122 Milan, Italy

**Cells** 2020, 9, 441 **I.F.: 4.366**

Nefele Giarratana, Filippo Conti, Rita La Rovere, Rik Gijsbers, Paolo Carai, Robin Duellen, Tim Vervliet, Geert Bultynck, Flavio Ronzoni, Roberto Piciotti, Domiziana Costamagna, Stefania Fulle, Ivana Barravecchia, Debora Angeloni, Yvan Torrente and Maurilio Sampaolesi

*MICAL2 is essential for myogenic lineage commitment*

**Cell Death and Disease** (2020) 11:654 **I.F.: 6.304**

Jordi Camps, Natacha Breuls, Alejandro Sifrim, Nefele Giarratana, Marlies Corvelyn, Laura Danti, Hanne Grosemans, Sebastiaan Vanuytven, Irina Thiry, Marzia Belicchi, Mirella Meregalli, Khrystyna Platko, Melissa E. MacDonald, Richard C. Austin, Rik Gijsbers, Giulio Cossu, Yvan Torrente, Thierry Voet and Maurilio Sampaolesi

*Interstitial Cell Remodeling Promotes Aberrant Adipogenesis in Dystrophic Muscles*

**Cell Reports** 31, 107597, May 5, 2020 **I.F.: 8.109**

Marco Stefanati, \*, Chiara Villa, Yvan Torrente, José Félix Rodríguez Matas

*A mathematical model of healthy and dystrophic skeletal muscle biomechanics*

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

**Journal of the Mechanics and Physics of Solids** 134 (2020) 103747 **I.F.: 5.00**

Marco Stefanati, Yvan Torrente, José Félix Rodríguez Matas

*Effect of myofibril architecture on the active contraction of dystrophic muscle. A mathematical model.*

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

**Journal of the mechanical behavior of biomedical materials** 114 (2021) 104214 **I.F.: 3.67**

Nicola Alessandro Iacovelli, Yvan Torrente, Adriana Ciuffreda, Vittorio A Guardamagna, Marta Gentili, Luca Giacomelli, Paola Sacerdote

*Topical treatment of radiation-induced dermatitis: current issues and potential solutions*

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

**Drugs in Context** 2020; 9: 2020-4-7. **I.F.: 2.04**

Berardelli A, Silani V, Barone P, Calabresi P, Girlanda P, Lopiano L, Massacesi L, Monaco S, Onofri M, Tassorelli C, Tedeschi G.

*Neurology and the COVID-19 emergency.*

**Neurol Sci.** 2020 Jun;41(6):1343-1344. doi: 10.1007/s10072-020-04465-8. **I.F. 2.415**

Ferrarese C, Silani V, Priori A, Galimberti S, Agostoni E, Monaco S, Padovani A, Tedeschi G; Italian Society of Neurology (SIN).

*An Italian multicenter retrospective-prospective observational study on neurological manifestations of COVID-19 (NEUROCOVID).*

**Neurol Sci.** 2020 Jun;41(6):1355-1359. doi: 10.1007/s10072-020-04450-1. I.F. 2.415

Turner MR, Barohn RJ, Corcia P, Fink JK, Harms MB, Kiernan MC, Ravits J, Silani V, Simmons Z, Statland J, van den Berg LH;

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

**J Neurol Neurosurg Psychiatry.** 2020 Apr;91(4):373-377. doi: 10.1136/jnnp-2019-322541. I.F. 8.263

Calcagno N, Colombo E, Maranzano A, Pasquini J, Keller Sarmiento IJ, Trogu F, Silani V. *Rising evidence for neurological involvement in COVID-19 pandemic.*

**Neurol Sci.** 2020 Jun;41(6):1339-1341. doi: 10.1007/s10072-020-04447-w. I.F. 2.415

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

Chronic stress induces formation of stress granules and pathological TDP-43 aggregates in human ALS fibroblasts and iPSC-motoneurons.

**Neurobiol Dis.** 2020 Nov;145:105051. doi: 10.1016/j.nbd.2020.105051. Epub 2020 Aug 20. I.F. 5.332

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

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

**J Cell Mol Med.** 2020 Apr;24(7):4051-4060. doi: 10.1111/jcmm.15048. Epub 2020 Mar 3. PMID: 32125773. I.F. 4.658

Schijven D, Stevelink R, McCormack M, van Rheenen W, Luykx JJ, Koeleman BPC, Veldink JH; Project MinE ALS GWAS Consortium;

*International League Against Epilepsy Consortium on Complex Epilepsies. Analysis of shared common genetic risk between amyotrophic lateral sclerosis and epilepsy.*

**Neurobiol Aging.** 2020 Aug;92:153.e1-153.e5. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2020.04.011. Epub 2020 Apr 18. PMID: 32409253. I.F. 4.347

Bendotti C, Bonetto V, Pupillo E, Logroscino G, Al-Chalabi A, Lunetta C, Riva N, Mora G, Lauria G, Weishaupt JH, Agosta F, Malaspina A, Basso M, Greensmith L, Van Den Bosch L, Ratti A, Corbo M, Hardiman O, Chiò A, Silani V, Beghi E.

*Focus on the heterogeneity of amyotrophic lateral sclerosis.*

**Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener.** 2020 Nov;21(7-8):485-495. doi: 10.1080/21678421.2020.1779298. Epub 2020 Jun 25. PMID: 32583689. I.F. 3.286

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

*CSF angiogenin levels in amyotrophic lateral Sclerosis-Frontotemporal dementia spectrum.*

**Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener.** 2020 Feb;21(1-2):63-69. doi: 10.1080/21678421.2019.1704016. Epub 2019 Dec 18. PMID: 31852251. I.F. 3.286

Pinto S, Quintarelli S, Silani V.

*New technologies and Amyotrophic Lateral Sclerosis - Which step forward rushed by the COVID-19 pandemic?*

**J Neurol Sci.** 2020 Nov 15;418:117081. doi: 10.1016/j.jns.2020.117081. Epub 2020 Aug 5. PMID: 32882437. I.F. 3.115

Schindler A, Pizzorni N, Sassone J, Nanetti L, Castaldo A, Poletti B, Solca F, Pirola F, Lazzari L, Stramba-Badiale M, Rossi A, Silani V, Mariotti C, Ciammola A.

*Fiberoptic endoscopic evaluation of swallowing in early-to-advanced stage Huntington's disease.*

**Sci Rep.** 2020 Sep 17;10(1):15242. doi: 10.1038/s41598-020-72250-w.PMID: 32943712.I.F. 3.998

Verde F, Zaina G, Bodio C, Borghi MO, Soranna D, Peverelli S, Ticozzi N, Morelli C, Doretto A, Messina S, Maderna L, Colombrita C, Gumina V, Tiloca C, Meroni PL, Zambon A, Ratti A, Silani V.

*Cerebrospinal fluid phosphorylated neurofilament heavy chain and chitotriosidase in primary lateral sclerosis.*

**J Neurol Neurosurg Psychiatry.** 2021 Feb;92(2):221-223. doi: 10.1136/jnnp-2020-324059. Epub 2020 Aug 27.PMID: 32855294 I.F. 8.263

Castelnovo V, Canu E, Calderaro D, Riva N, Poletti B, Basaia S, Solca F, Silani V, Filippi M, Agosta F.

*Progression of brain functional connectivity and frontal cognitive dysfunction in ALS.*

**Neuroimage Clin.** 2020;28:102509. doi: 10.1016/j.nicl.2020.102509. Epub 2020 Nov 19.PMID: 33395998. I.F. 4.350

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

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

**Neurol Sci.** 2020 Oct;41(10):2997-2998. doi: 10.1007/s10072-020-04462-x. Epub 2020 May 20.PMID: 32435995. I.F. 2.415

Spinelli EG, Riva N, Rancoita PMV, Schito P, Doretto A, Poletti B, Di Serio C, Silani V, Filippi M, Agosta F.

*Structural MRI outcomes and predictors of disease progression in amyotrophic lateral sclerosis.*

**Neuroimage Clin.** 2020;27:102315. doi: 10.1016/j.nicl.2020.102315. Epub 2020 Jun 17.PMID: 32593977. I.F. 4.350

Schito P, Ceccardi G, Calvo A, Falzone YM, Moglia C, Lunetta C, Marinou K, Ticozzi N, Scialo C, Sorarù G, Trojsi F, Conte A, Tortelli R, Russo M, Zucchi E, Pozzi L, Domi T, Carrera P, Agosta F, Quattrini A, Fazio R, Chiò A, Sansone VA, Mora G, Silani V, Volanti P, Caponnetto C, Querin G, Tedeschi G, Sabatelli M, Logroscino G, Messina S, Mandrioli J, Riva N, Filippi M.

*Clinical features and outcomes of the flail arm and flail leg and pure lower motor neuron MND variants: a multicentre Italian study.*

**J Neurol Neurosurg Psychiatry.** 2020 Sep;91(9):1001-1003. doi: 10.1136/jnnp-2020-323542. Epub 2020 Jul 10.PMID: 32651246. I.F. 8.263

Scialò C, Tran TH, Salzano G, Novi G, Caponnetto C, Chiò A, Calvo A, Canosa A, Moda F, Caroppo P, Silani V, Ticozzi N, Ratti A, Borroni B, Benussi L, Ghidoni R, Furlanis G, Manganotti P, Senigaglia B, Parisse P, Brasselet R, Buratti E, Legname G.

*TDP-43 real-time quaking induced conversion reaction optimization and detection of seeding activity in CSF of amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia patients.*

**Brain Commun.** 2020 Sep 14;2(2):fcaa142. doi: 10.1093/braincomms/fcaa142. eCollection 2020.PMID: 33094285. I.F.no

Coraini A, Tiloca C, Ratti A, Michelozzi G, Maderna L, Silani V.

*Cervical transverse MRI in ALS diagnosis and possible link to VEGF and MMP9 single nucleotide polymorphisms. Case Report.*

**SN Comprehensive Clinical Medicine.** 2020. doi.org/10.1007/s42399-020-00281-5. I.F. no

Poletti B, Tagini S, Brugnera A, Parolinc L, Pievanib L, Ferrucci R, Compare A, Silani V. *Telepsychotherapy: a leaflet for psychotherapists in the age of COVID-19. A review of the evidence.*

**Counselling Psychology Quarterly** 2020. oi.org/10.1080/09515070.2020.1769557. I.F. no

Bertini Veronica, Giuliani Cecilia, Ferreri Maria Immacolata, Orsini Alessandro, Bonuccelli Alice, Peroni Diego, Bonaglia Maria Clara, Valetto Angelo (2020);

*A prenatal case with multiple supernumerary markers identified as derivatives of chromosomes 13, 15, and 20: molecular cytogenetic characterization and review of the literature;*

**The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine**, in press

DOI: 10.1080/14767058.2019.1670808

Bonaglia Maria Clara, Bertuzzo Sara, Ciaschini Anna Maria, Discepoli Giancarlo, Castiglia Lucia, Romaniello Romina, Zuffardi Orsetta, Fichera Marco (2020);

*Targeted next-generation sequencing identifies the disruption of the shank3 and ryr2 genes in a patient carrying a de novo t(1;22) q43;q13.3) associated with signs of phelan-mcdermid syndrome;*

**Molecular Cytogenetics**, 13:22 DOI: 10.1186/s13039-020-00490-6

Cagliani Rachele\*, Forni Diego\*, Clerici Mario, Sironi Manuela (2020);

*Coding potential and sequence conservation of sars-cov-2 and related animal viruses;*

**Infection, Genetics and Evolution**, 83:104353

DOI: 10.1016/j.meegid.2020.104353

Cagliani Rachele\*, Forni Diego\*, Clerici Mario, Sironi Manuela (2020);

*Computational inference of selection underlying the evolution of the novel coronavirus, severe acute respiratory syndrome coronavirus 2;*

**Journal of Virology**, 94(12):e00411-e00420 DOI: 10.1128/JVI.00411-20

Cagliani Rachele\*, Forni Diego\*, Mozzi Alessandra\*, Sironi Manuela (2020);

*Evolution and genetic diversity of primate cytomegaloviruses; Microorganisms*, 8(5):E624 - DOI: 10.3390/

**microorganisms**8050624

Carnovale Carla\*, Maffioli Anna\*, Zaffaroni Gloria, Mazhar Faizan, Battini Vera, Mosini Giulia, Pozzi Marco, Radice Sonia, Clementi Emilio, Danelli Piergiorgio (2020);

*Efficacy of tumour necrosis factor-alpha therapy in paediatric crohn's disease patients with perianal lesions: a systematic review;*

**Expert Opinion on Biological Therapy**, 20(3):239-251 DOI: 10.1080/14712598.2020.171809

D'Amore Angelica, Tessa Alessandra, Naef Valentina, Bassi Maria Teresa, Citterio Andrea, Romaniello Romina, Fichi Gianluca, Galatolo Daniele, Mero Serena, Battini Roberta, Bertocci Giulia, Baldacci Jacopo, Sicca Federico, Gemignani Federica, Ricca Ivana, Rubegni Anna, Hirst Jennifer, Marchese Maria, Sahin Mustafa, Ebrahimi-Fakhari Darius, Santorelli Filippo Maria (2020);

*Loss of ap4s1 in zebrafish leads to neurodevelopmental defects resembling spastic paraplegia 52;*

**Annals of Clinical and Translational Neurology**, 7(4):584-589 DOI: 10.1002/acn3.51018

- De Rinaldis Marta, Giorda Roberto, Trabacca Antonio (2019);  
*Mild epileptic phenotype associates with de novo eef1a2 mutation: case report and review;*  
**Brain and Development**, 42(1):77-82 DOI: 10.1016/j.braindev.2019.09.001
- Errichiello Edoardo, Giorda Roberto, Gambale Antonella, Iolascon Achille, Zuffardi Orsetta, Giglio Sabrina (2020);  
*Rb1cc1 duplication and aberrant overexpression in a patient with schizophrenia: further phenotype delineation and proposal of a pathogenetic mechanism;*  
**Molecular Genetics & Genomic Medicine**, in press DOI: 10. 1002.mgg3.1561
- Forni Diego, Cagliani Rachele, Clerici Mario, Pozzoli Uberto, Sironi Manuela (2020);  
*Evolutionary analysis of exogenous and integrated hhv-6a/hhv-6b populations;*  
**Virus Evolution**, 30(6): veaa035 DOI: 10.1093/ve/veaa035
- Forni Diego, Cagliani Rachele, Clerici Mario, Pozzoli Uberto, Sironi Manuela (2019);  
*you will never walk alone: co-dispersal of jc polyomavirus with human populations;*  
**Molecular Biology and Evolution**, 37(2):442-454 DOI: 10.1093/molbev/msz227
- Forni Diego, Cagliani Rachele, Pontremoli Chiara, Mozzi Alessandra, Pozzoli Uberto, Clerici Mario, Sironi Manuela (2020);  
*antigenic variation of sars-cov-2 in response to immune pressure;*  
**Molecular Ecology**, in press DOI: 10.1111/mec.15730
- Forni Diego, Cagliani Rachele, Sironi Manuela (2020);  
*Recombination and positive selection differentially shaped the diversity of betacoronavirus subgenera;*  
**Viruses**, 12:1313 DOI: 10.3390/v12111313
- Forni Diego, Pontremoli Chiara, Clerici Mario, Pozzoli Uberto, Cagliani Rachele, Sironi Manuela (2019);  
*recent out-of-africa migration of human herpes simplex viruses;*  
**Molecular Biology and Evolution**, 37(5):1259-1271 DOI: 10.1093/molbev/msaa001
- Forni Diego, Sironi Manuela (2020);  
*Population structure of lassa mammarenavirus in west africa;*  
**Viruses**, 12(4): E437 DOI: 10.3390/v12040437
- Giovarelli Matteo\*, Zecchini Silvia\*, Martini Emanuele, Garrè Massimiliano, Barozzi Sara, Ripolone Michela, Napoli Laura, Cozzoli Marco, Vantaggiato Chiara, Roux-Biejat Paulina, Cervia Davide, Moscheni Claudia, Perrotta Cristiana, Parazzoli Dario, Clementi Emilio§, De Palma Clara§ (2020);  
*Drp1 overexpression induces desmin disassembling and drives kinesin-1 activation promoting mitochondrial trafficking in skeletal muscle;*  
**Cell Death and Differentiation**, 27:2383-2401 DOI: 10.1038/s41418-020-0510-7
- Kuhn Jens H., Adkins Scott, Alioto Daniela, Alkhovsky Sergey V., Amarasinghe Gaya K., Anthony Simon J., Avsic-Zupanc Tatjana, Ayllon Maria A., Bahl Justin, Balkema-Buschmann Anne, Ballinger Matthew J., Bartonicka Tomas, Basler Christopher, Bavari Sina, Beer Martin, Bente Dennis A., Bergeron Eric, Bird Brian H., Blair Carol D., Blasdel Kim R., Bradfute Steven B., Breyta Rachel, Briesse Michael, Brown Paul A....., Sironi Manuela, ...., Zhang Yong-Zhen, Zhou Guohui, Zhou Xueping (2020); 2020  
*Taxonomic update for phylum negarnaviricota (riboviria: orthornavirae), including the large orders bunyavirales and mononegavirales;*



**Archives of Virology**, 165(12):3023-3072 DOI: 10.1007/s00705-020-04731-2

Mauri Maddalena, Grazioli Silvia, Crippa Alessandro, Bacchetta Andrea, Pozzoli Uberto, Bertella Silvana, Gatti Erika, Maggioni Eleonora, Rosi Eleonora, Diwadkar Vaibhav A., Brambilla Paolo, Molteni Massimo, Nobile Maria (2020);

*Hemodynamic and behavioral peculiarities in response to emotional stimuli in children with attention deficit hyperactivity disorder: an fnirs study;*

**Journal of Affective Disorders**, 277:671-680 DOI: 10.1016/j.jad.2020.08.064

Montagna Aldo\*, Vajente Nicola\*, Pendin Diana§, Daga Andrea§ (2020);

*In vivo analysis of crispr/cas9 induced atlastin pathological mutations in drosophila;*

**Frontiers in Neuroscience**, 14:547746 DOI: 10.3389/fnins.2020.547746

Mozzi Alessandra, Biolatti Matteo\*, Cagliani Rachele\*, Forni Diego\*, Dell'Oste Valentina, Pontremoli Chiara, Vantaggiato Chiara, Pozzoli Uberto, Clerici Mario, Landolfo Santo, Sironi Manuela (2020);

*Past and ongoing adaptation of human cytomegalovirus to its host;*

**Plos Pathogens**, 16(5):e100847 DOI: 10.1371/journal.ppat.1008476

Mozzi Alessandra, Forni Diego, Cagliani Rachele, Clerici Mario, Pozzoli Uberto, Sironi Manuela (2020);

*Intrinsically disordered regions are abundant in simplexvirus proteomes and display signatures of positive selection;*

**Virus Evolution**, 6(1): veaa028 DOI: 10.1093/ve/veaa028

Pozzi Marco, Bertella Silvana, Gatti Erika, Peeters Gabrielle, Carnovale Carla, Zambrano Stefania, Nobile Maria (2020);

*Emerging drugs for the treatment of attention deficit hyperactivity disorder (adhd);*

**Expert Opinion on Emerging Drugs**, 25(4):395-407 DOI: 10.1080/14728214.2020.1820481

Provenzi Livio, Grumi Serena, Giorda Roberto, Biasucci Giacomo, Bonini Renza, Cavallini Anna, Decembrino Lidia, Drera Bruno, Falcone Rossana, Fazzi Elisa, Gardella Barbara, Giaccherio Roberta, Nacinovich Renata, Pisoni Camilla, Prefumo Federico, Scelsa Barbara, Spartà Maria Valentina, Veggiotti Pierangelo, Orcesi Simona, Borgatti Renato,

*mom-cope study group (2020); measuring the outcomes of maternal covid-19-related prenatal exposure (mom-cope): study protocol for a multicentric longitudinal project;*

**BMJ Open**, 10(12): e044585 DOI: 10.1136/bmjopen-2020-044585

Rizzo Giovanni, Tonon Caterina, Gramegna Laura Ludovica, Bassi Maria Teresa, Lodi Raffaele, Liguori Rocco (2020);

*"eye of tiger sign" mimic in patients with spastic paraplegia gene 7 (spg7) mutations;*

**Parkinsonism and Related Disorders**, 81:158-160 DOI: 10.1016/j.parkreldis.2020.10.0

Rosi Eleonora, Grazioli Silvia, Villa Filippo Maria, Mauri Maddalena, Gazzola Erica, Pozzi Marco, Molteni Massimo, Nobile Maria (2020);

*Use of non-pharmacological supplementations in children and adolescents with attention deficit/hyperactivity disorder: a critical review;*

**Nutrients**, 12(6):E1573 DOI: 10.3390/nu12061573

Roux Thomas\*, Barbier Mathieu\*, Papin Melanie\*, Davoine Claire-Sophie, Sayah Sabrina, Coarelli Giulia, Charles Perrine, Marelli Cecilia, Parodi Livia, Tranchant Christine, Goizet Cyril, Klebe Stephan, Lohmann Ebba, Van Maldergem Lionel, Van Broeckhoven Christine,

Coutelier Marie, Tesson Christelle, Stevanin Giovanni, Duyckaerts Charles, Brice Alexis, Durr Alexandra, SPATAX Network (Bassi Maria Teresa, Vavla Marinela) (2020);

*Clinical, neuropathological, and genetics characterization of stub1 variants in cerebellar ataxias: a frequent cause of predominant cognitive impairment;*

**Genetics in Medicine**, 22(11):1851-1862 DOI: 10.1038/s41436-020-0899-x

Severino Mariasavina\*, Pisciotto Livia\*, Tortora Domenico, Toselli Benedetta, Stagnaro Michela, Cordani Ramona, Morana Giovanni, Zicca Anna, Kotzeva Svetlana, Zanaboni Clelia, Montobbio Giovanni, Rossi Andrea, De Grandis Elisa, the IBAHC Consortium (Bassi Maria Teresa, Zucca Claudio) (2020);

*White matter and cerebellar involvement in alternating hemiplegia of childhood;*

**Journal of Neurology**, 267(5):1300-1311 DOI: 10.1007/s00415-020-09698-3

Sironi Manuela, Hasnain Seyed E., Rosenthal Benjamin, Phan Tung, Luciani Fabio, Shaw Marie-Anne, Sallum M. Anice, Mirhashemi Marzieh Ezzaty, Morand Serge, Gonzalez-Candelas Fernando on behalf of the Editors of Infection, Genetics and Evolution (2020);

*sars-cov-2 and covid-19: a genetic, epidemiological, and evolutionary perspective;*

**Infection, Genetics and Evolution**, 84:104384 DOI: 10.1016/j.meegid.2020.104384

Vavla Marinela, Arrigoni Filippo Silvio Aldo, Toschi Nicola, Peruzzo Denis, D'Angelo Maria Grazia, Gandossini Sandra, Russo Annamaria, Diella Eleonora, Tirelli Stefania, Salati Roberto, Rufini Alessandra, Condò Ivano, Testi Roberto, Martinuzzi Andrea (2020);

*Sensitivity of neuroimaging indicators in monitoring the effects of interferon gamma treatment in friedreich's ataxia;*

**Frontiers in Neuroscience**, 14:872

DOI: 10.3389/fnins.2020.00872

Vavla Marinela, D'Angelo Maria Grazia, Arrigoni Filippo Silvio Aldo, Toschi Nicola, Peruzzo Denis, Gandossini Sandra, Russo Annamaria, Diella Eleonora, Tirelli Stefania, Salati Roberto, Scarpazza Paolo, Luffarelli Riccardo, Fortuni Silvia, Rufini Alessandra, Condò Ivano, Testi Roberto, Martinuzzi Andrea (2020);

*Safety and efficacy of interferon  $\gamma$  in friedreich's ataxia;*

**Movement Disorders**, 35(2):370-371 DOI: 10.1002/mds.27979