



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

2021

SEZIONI DEL “CENTRO DINO FERRARI”

LABORATORIO DI BIOCHIMICA, GENETICA DELLE MALATTIE NEUROMUSCOLARI	Pag. 3
LABORATORIO DI NEUROIMMUNOLOGIA CLINICA	Pag. 29
LABORATORIO CELLULE STAMINALI NEURALI	Pag. 39
U.O.S.D. MALATTIE NEUROMUSCOLARI E RARE	Pag. 55
U.O.S.D. MALATTIE NEURODEGENERATIVE	Pag. 65
LABORATORIO PARKINSON E ALTRI DISTURBI DEL MOVIMENTO	Pag. 81
LABORATORIO DI CELLULE STAMINALI	Pag. 87
U.O.S. STROKE UNIT	Pag. 101
 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. 107
 SEDE DISTACCATA DEL CENTRO “DINO FERRARI” PRESSO IL LABORATORIO DI BIOLOGIA MOLECOLARE, CITOGENETICA, ANALISI BIOCHIMICO-CLINICHE, BIOINFORMATICA- IRCCS E. MEDEA	 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. Eleonora Mauri

BIOLOGI

Dott. Roberto Del Bo
Dott. Sabrina Lucchiari
Dott. Daniela Piga
Dott. Domenica Saccomanno

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 più di 100, analizzate mediante l'uso di un ampio numero di tecniche molecolari. L'attività di diagnosi molecolare di queste condizioni rare di malattia è stimabile complessivamente in circa 600 prestazioni / anno erogate dal Laboratorio di Biochimica e Genetica dell'UOC di Neurologia.

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

Al mondo si calcola che le patologie rare siano più di 8.000, e il 75% riguarda la popolazione pediatrica. Oltre il 50% delle malattie rare è di natura neurologica. L'identificazione del difetto molecolare alla base di queste patologie è rilevante per diverse finalità: i) conferma della diagnosi clinica o biochimica; ii) identificazione di specifici sottotipi della patologia in esame; iii) migliore definizione della prognosi, sulla base di correlazioni genotipo-fenotipo; iv) counselling genetico. Quest'ultimo aspetto rappresenta una sfida complessa. Infatti, nell'ambito delle malattie neurologiche rientrano patologie diverse per ereditarietà, età di esordio ed evoluzione con uno spettro che va da fenotipi ad esordio pediatrico (o neonatale) con aspetti sindromici (es. sindromi metaboliche genetiche) o limitati a specifici distretti (es. distrofie muscolari), fino a malattie dell'adulto, ad andamento progressivo, potenzialmente molto invalidanti (es. malattie neurodegenerative).

L'identificazione del difetto molecolare assume oggi maggiore importanza dato che molti approcci sperimentali vengono sviluppati per la modifica temporanea (es. exon skipping, oligonucleotidi 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 sequenziamento di geni malattia. Quest'approccio è particolarmente utile in presenza di opportuni indicatori (clinici, strumentali, biochimici) che possano indirizzare l'analisi molecolare ma non sempre è sufficiente (più geni che causano lo stesso fenotipo, es. distrofie muscolari dei cingoli) o conveniente (screening di geni di grandi dimensioni, es. DMD, NEB). Inoltre, molte patologie neurologiche presentano una elevata sovrapposizione clinica (es. disturbi del movimento) e una eterogeneità genetica tale (es. Sclerosi Laterale Amiotrofica) da rendere questa strategia, "trial and error", poco utile per il paziente (ritardo nella diagnosi, ripetizione di analisi in più centri) e per il sistema sanitario nazionale (aumento del numero degli esami, moltiplicazione dei costi).

L'introduzione di tecniche basate sul sequenziamento di nuova generazione ha migliorato questo scenario con la definizione di pannelli di geni dedicati a specifiche malattie, analizzati in parallelo. Nonostante i vantaggi introdotti, questa strategia (gene panel sequencing) ha già rivelato i suoi limiti con un successo diagnostico rilevante ma incompleto in alcuni gruppi di malattie come le malattie metaboliche mitocondriali (PMC3523805), le atassie genetiche (PMC3784284, PMC3719425) o le distrofie muscolari (PMID25380242), un dato confermato anche presso il nostro centro (PMC4172906).

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

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

Un compromesso è l'uso dell'esoma clinico, uno strumento che indica l'arricchimento e l'analisi dei soli geni-malattia fin qui imputati nelle patologie mendeliane umane. Questo tipo di approccio realizza un pannello universale che consente di affrontare sia i geni di più grandi dimensioni associati ad un fenotipo, sia le cause genetiche associate a condizioni che entrano in diagnosi differenziale con la malattia di interesse. I geni indagati, circa 8000, costituiscono un impegno per la fase di analisi ma più affrontabile rispetto all'approccio più generale dell'esoma completo. Allo stesso tempo l'esoma clinico è compatibile con la strumentazione di automazione acquisita, migliorando la nostra capacità di generare risultati in tempi rapidi. Nel corso del 2021 abbiamo completato di validazione dell'esoma clinico in un piccolo gruppo di pazienti per verificare la coerenza della nuova analisi con i risultati ottenuti da precedenti approcci di sequenziamento di nuova generazione (esoma o pannello genico) sugli stessi soggetti. La disponibilità di questo nuovo approccio amplierà ulteriormente la disponibilità diagnostica del nostro laboratorio.

Nel corso del 2021 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) Messa a punto e applicazione di un pannello multigenico per l'analisi NGS (sequenziamento di nuova generazione) di pazienti con debolezza muscolare distale.

La precisa frequenza delle varie forme di miopatia distale non è ancora nota. Si è a conoscenza, però, che alcune forme presentano un'incidenza maggiore in determinate regioni: ad esempio, in Finlandia, la “distrofia muscolare della tibia” (miopatia distale di Udd) ha una prevalenza stimata di 7 affetti ogni 100.000 individui, mentre la miopatia distale di Welander si verifica con maggiore frequenza in Svezia, dove la prevalenza è stimata a 1 affetto ogni 1.000 individui. Sebbene, singolarmente, le miopatie distali vengano considerate malattie genetiche rare, la loro incidenza combinata supera 1 su 3.000.

Per migliorare il tasso diagnostico, ad una coorte di 24 pazienti, afferenti al Centro Dino Ferrari dell'Università di Milano presso il Policlinico di Milano, è stato disegnato ed applicato un pannello multi-genico per sequenziare in parallelo 60 geni collegati al disturbo di debolezza muscolare distale. Questi geni sono associati a forme primarie di miopatia distale o ad altre condizioni neuromuscolari (ad esempio neuropatie genetiche, come la malattia di Charcot-Marie-Tooth) che rientrano nella diagnosi differenziale di quadri con debolezza della muscolatura distale. Partendo dal DNA genomico sono state preparate delle librerie di sequenza, seguendo la chimica basata sull'utilizzo di ampliconi (Agilent HaloPlex). Dopo la prioritizzazione, le varianti candidate sono state sottoposte ad un processo di validazione mediante approcci genetici e bioinformatici; successivamente, sono state classificate secondo le linee guida dell'American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG).

Nella nostra coorte di 23 pazienti (22 probandi indipendenti) sottoposti a pannello NGS, l'applicazione del pannello HaloPlex ha consentito di ottenere una diagnosi definitiva solo nel Paziente 1 (4,5% del campione).

Abbiamo identificato delle varianti probabilmente causative in cinque pazienti (22.7%), ovvero nei pazienti 6,10,13,14 e 19 e, considerando gli elementi clinici dei pazienti, si è reso utile lo studio di segregazione nel gruppo familiare. In 10 pazienti (45,5%) sono state identificate delle varianti, ma con un significato patogenetico dubbio. Nei restanti sei pazienti (27,2%), non è stata individuata alcuna variante clinicamente rilevante. In questi pazienti le varianti causative della malattia potrebbero trovarsi in altri punti, come regioni geniche non codificanti, introniche profonde o regolatorie.

Gli aspetti clinici, istologici e molecolari del paziente 1 sono oggetto di un manoscritto attualmente in revisione sulla rivista *Neurology Genetics*. Pensiamo di valorizzare anche una nuova variante nel gene HSPB3, associato ad una rara forma di neuropatia ereditaria motoria distale, previa verifica della segregazione nel gruppo famigliare.

1.2) Messa a punto e applicazione di MOTOPLEX, un pannello multigenico per l'analisi NGS (sequenziamento di nuova generazione) in pazienti con malattie del motoneurone.

Il nostro laboratorio è da sempre impegnato nella diagnosi molecolari delle malattie del motoneurone pediatriche (come l'amiotrofia spinale) o ad esordio adulto (come la Sclerosi Laterale Amiotrofica, SLA). Questo compito è stato realizzato in gran parte attraverso il sequenziamento diretto di geni candidati. Più recentemente abbiamo esteso i protocolli di indagine mediante tecniche quantitative (es PCR quantitativa) o con saggi in grado di identificare tratti ripetuti ed espansi del DNA. Il sempre più grande numero di geni coinvolti in queste patologie e la loro dimensione richiede il passaggio a tecniche molecolari più estese come il sequenziamento di nuova generazione. Abbiamo quindi disegnato un pannello HaloPlex per l'analisi simultanea di questi geni coinvolti nelle forme più comuni e più rare di malattia del motoneurone: ALS2, AAAS, ANG, ANXA11, ARHGEF10, ASAH1, ATXN2, BICD2, BSCL2, CHCHD10, CHMP2B, CHRNA3, COX6A1, DAO, DCTN1, DHTKD1, DNAJC7, DRP2, DYNC1H1, ERLIN1, ERBB4, EXOSC3, FBXO38, FIG4, FUS, GARS, GDAP1, GJB1, GLE1, GLT8D1, GNB4, HEXA, HEXB, HNRNPA1, HSPB1, HSPB3, HSPB8, IGHMBP2, INF2, KARS, KIF5A, MATR3, MFN2, NEFH, NEK1, OPTN, PLEKHG5, PFN1, REEP1, SCO2, SETX, SIGMAR1, SLC5A7, SLC52A2, SLC52A3, SMN1, SOD1, SYT2, SPG11, SPTLC1, SQSTM1, TAF15, TARDBP, TBK1, TFG, TIA1, TK2, TRPV4, TTR, TUBA4A, TUBB4A, UBA1, UBQLN2, UNC13A, VAPB, VCP,

VRK1, YARS. Abbiamo applicato questo pannello ad una piccola corte (n=16) di pazienti dei nostri ambulatori che avevano già completato il tradizionale iter diagnostico, senza riscontro di varianti di rilievo.

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 5 pazienti (31%) in geni nuovi o rari che difficilmente sono oggetto di valutazione mediante approccio classico. Una diagnosi importante è stata l'identificazione di una variante di splicing eterozigote nel gene TBK1, le cui mutazioni sono state precedentemente descritte come rarissima causa di SLA. Questo risultato testimonia l'elevata capacità diagnostica del nostro approccio.

1.3) Caratterizzazione dei pazienti con Distrofia Muscolare di Becker mediante biomarcatori.

La distrofia muscolare di Becker (BMD) è una patologia caratterizzata da differenti gradi di severità e progressione, per cui è fondamentale l'identificazione di biomarkers specifici da poter utilizzare nei trials clinici. A tale scopo abbiamo utilizzato i dati di uno studio di fase II in corso, per fornire una caratterizzazione completa di una coorte di pazienti con BMD, valutando i markers istologici, le immagini di risonanza magnetica (MRI) e le correlazioni con la funzionalità e la forza muscolare. I pazienti BMD arruolati nello studio erano maschi tra i 18 e i 65 anni. Nel corso del trial clinico sono stati raccolti molti dati: i risultati dei test funzionali, la forza muscolare, la quantificazione della frazione grassa utilizzando una MRI specifica, la fibrosi e l'area occupata dalle fibre muscolari nel bicipite brachiale.

Tra i pazienti analizzati c'era una sostanziale eterogeneità nella morfologia muscolare per l'elevata sostituzione del muscolo col grasso. La fibrosi totale correlava significativamente e moderatamente con tutti i dati funzionali, includendo sia le valutazioni della forza della parte superiore del braccio sia la frazione di grasso alla MRI.

In conclusione, nel gruppo di pazienti BMD analizzati i parametri morfologici muscolari microscopici e macroscopici correlavano moderatamente tra di loro e con gli altri parametri funzionali, supportando potenzialmente l'utilizzo dell'istologia e della MRI sull'analisi della frazione grassa come misure sostitutive dei risultati ottenuti nei pazienti con BMD.

Comi GP, Niks EH, Cinnante CM, Kan HE, Vandenborne K, Willcocks RJ, Velardo D, Ripolone M, van Benthem JJ, van de Velde NM, Nava S, Ambrosoli L, Cazzaniga S, Bettica PU. *Characterization of patients with Becker muscular dystrophy by histology, magnetic resonance imaging, function, and strength assessments.*

Muscle Nerve. 2021 Dec 16. doi: 10.1002/mus.27475. Epub ahead of print. PMID: 34918368.

[IF = 2.496]

1.4) Valutazione della scala North Star Ambulatory Assessment in pazienti deambulanti con Distrofia Muscolare di Duchenne dovuta a mutazioni in grado di beneficiare dello skipping degli esoni 44, 45, 51 e 53.

In questo studio collaborativo abbiamo valutato i cambiamenti in pazienti deambulanti affetti da Distrofia Muscolare di Duchenne che potrebbero ricevere terapie per lo skipping degli esoni 44, 45, 51, 53 utilizzando la scala North Star Ambulatory Assessment (NSAA). Nello studio sono stati inclusi 101 pazienti: 34 avevano delezioni che potevano beneficiare dello skipping dell'esone 44, 25 potevano beneficiare dello skipping dell'esone 45, 19 potevano beneficiare dello skipping dell'esone 51, 28 potevano beneficiare dello skipping dell'esone 53. Questi pazienti non sono stati arruolati in trial clinici attualmente in corso. In cinque pazienti con delezione singola dell'esone 52 è possibile impiegare lo skipping degli esoni 51 e 53.

La differenza osservata tra i sottogruppi (skipping dell'esone 44, 45, 51, 53) era significativa a 12, 24 e 36 mesi. Le mutazioni che possono beneficiare dello skipping degli esoni 53 e 51 hanno mostrato un valore baseline più basso e cambiamenti più negativi rispetto agli altri sottogruppi mentre quelli in cui si può saltare l'esone 44 presentano punteggi più elevati sia al baseline che nei follow up.

Il nostro studio conferma una differente progressione della malattia nei pazienti che possono ricevere lo skipping di differenti esoni. Questa informazione è molto importante per un uso appropriato della scala NSAA nella valutazione degli outcome a lungo termine dei pazienti attualmente coinvolti in trial clinici con queste specifiche mutazioni.

Coratti G, Pane M, Brogna C, Ricotti V, Messina S, D'Amico A, Bruno C, Vita G, Berardinelli A, Mazzone E, Magri F, Ricci F, Mongini T, Battini R, Bello L, Pegoraro E, Baranello G, Previtali SC, Politano L, Comi GP, Sansone VA, Donati A, Hogrel JY, Straub V, De Lucia S, Niks E, Servais L, De Groot I, Chesshyre M, Bertini E, Goemans N, Muntoni F, Mercuri E; on behalf on the International DMD Group and the iMDEx Consortium.

North Star Ambulatory Assessment changes in ambulant Duchenne boys amenable to skip exons 44, 45, 51, and 53: A 3 year follow up.

PLoS One. 2021 Jun 25;16(6): e0253882. doi: 10.1371/journal.pone.0253882. PMID: 34170974; PMCID: PMC8232423. [IF = 3.24]

1.5) Valutazione dei dati di cambiamento motorio in pazienti con Distrofia Muscolare di Duchenne deambulanti sulla base del tipo e dell'intorno della mutazione non senso (codone di stop prematuro).

Lo scopo dello studio era la valutazione dei dati longitudinali di un periodo di 3 anni in 26 pazienti con Distrofia Muscolare di Duchenne deambulanti con mutazioni non senso usando il test dei 6 minuti di cammino (6MWT) e confrontare questi risultati con quelli di altre mutazioni intrageniche. Volevamo anche valutare nei pazienti con mutazioni non senso la presenza di cambiamenti associati a numerose altre variabili. I pazienti con le mutazioni non senso sono stati suddivisi sulla base del tipo di codone stop creato dalla mutazione e sulla base delle sequenze immediatamente a monte e a valle, senza identificare differenze al 6MWT rispetto alle altre piccole mutazioni. Non abbiamo osservato differenze dopo stratificazione dei dati sulla base di: tipo di codone di stop, stato della cornice di lettura dell'esone comprendente lo stop prematuro, dominio proteico interessato. Al contrario c'era una differenza quando si considerava anche l'intorno della mutazione (codone di STOP e successivi nucleotidi) con un declino più rapido osservato nei pazienti con codone di STOP TGA seguito da una G come nucleotide successivo. Questo dato suggerisce che un'attenta analisi dell'intorno del codone di stop prematuro può influenzare i cambiamenti funzionali. Questo suggerimento potrebbe essere decisivo per una corretta analisi dei dati di follow up dei pazienti trattati con Ataluren che si rendono via via disponibili.

Brogna C, Coratti G, Rossi R, Neri M, Messina S, Amico A, Bruno C, Lucibello S, Vita G, Berardinelli A, Magri F, Ricci F, Pedemonte M, Mongini T, Battini R, Bello L, Pegoraro E, Baranello G, Politano L, Comi GP, Sansone VA, Albamonte E, Donati A, Bertini E, Goemans N, Previtali S, Bovis F, Pane M, Ferlini A, Mercuri E; on behalf on the International DMD group.

The nonsense mutation stop+4 model correlates with motor changes in Duchenne muscular dystrophy.

Neuromuscul Disord. 2021 Jun;31(6):479-488. doi: 10.1016/j.nmd.2021.02.015. Epub 2021 Feb 21. PMID: 33773883. [IF = 4.296]

1.6) Meta-analisi dell'efficacia clinica nel rallentamento della progressione di Distrofia Muscolare di Duchenne in pazienti trattati con deflazacort rispetto a prednisone/prednisolone

La distrofia muscolare di Duchenne è la più comune distrofia muscolare X-linked progressiva che provoca impaccio motorio e perdita della deambulazione per poi estendersi alla muscolatura respiratoria con riduzione della sopravvivenza dei pazienti affetti. La somministrazione di steroidi si è rilevata utile nel ritardare la naturale progressione della patologia, salvaguardando la forza muscolare e la funzione motoria dal deterioramento indotto dalla distrofia di Duchenne. In questo studio collaborativo abbiamo investigato l'efficacia clinica nel rallentamento della perdita delle capacità motorie in pazienti con Distrofia Muscolare di Duchenne con mutazioni non-senso.

Abbiamo utilizzato dati di coorti di studi clinici precedenti (Placebo data dallo studio di Fase IIb ClinicalTrials.gov: NCT00592553 e ACT DMD ClinicalTrials.gov: NCT01826487 ataluren nonsense mutation DMD clinical trial) che sono stati combinati in una metanalisi per la valutazione del cambiamento dei metri percorsi al test del cammino per 6 minuti (6 minute-walking test) con pazienti trattati con prednisone/prednisolone o trattati con il derivato del prednisolone deflazacort. Un significativo miglioramento con una differenza media di 39,54 metri percorsi è stato osservato nei pazienti trattati con deflazacort, confermando l'efficacia di questo farmaco nel rallentare la progressione della malattia rispetto all'uso di prednisone/prednisolone in pazienti con Distrofia Muscolare di Duchenne deambulanti.

Shieh PB, Elfring G, Trifillis P, Santos C, Peltz SW, Parsons JA, Apkon S, Darras BT, Campbell C, McDonald CM; Members of the Ataluren Phase IIb Study Group†; Members of the Ataluren Phase IIb Study Clinical Evaluator Training Group‡; Members of the ACT DMD Study Group¶; Members of the ACT DMD Clinical Evaluator Training Group§.

Meta-analyses of deflazacort versus prednisone/prednisolone in patients with nonsense mutation Duchenne muscular dystrophy.

J Comp Eff Res. 2021 Dec;10(18):1337-1347. doi: 10.2217/ce-2021-0018. Epub 2021 Oct 25. PMID: 34693725. [IF = 2.268]

2) Malattie mitocondriali, miopatie metaboliche e altre miopatie.

2.1) Mutazioni missense nel gene della small muscle protein X-linked (SMPX) causano miopatia distale ad inclusioni proteiche.

In questo importante studio abbiamo contribuito alla identificazione di un nuovo tipo di miopatia distale, causata da mutazioni nel gene Small muscle protein X-linked (SMPX), ottenuta grazie alla combinazione del sequenziamento genetico di nuova generazione e di un approfondito studio clinico. Nel complesso abbiamo rilevato 4 mutazioni missense in 10 pazienti appartenenti a 9 famiglie di diversa nazionalità, il che induce a ritenere la malattia diffusa anche in popolazioni diverse da quella italiana. L'analisi dell'aplotipo in pazienti di origine comune ha rilevato due diverse mutazioni fondatrici nel Sud Europa e Francia, aree in cui la prevalenza potrebbe essere maggiore. Tutti i pazienti presentavano caratteristiche cliniche molto simili: esordio adulto, debolezza muscolare generalmente soprattutto distale e lentamente progressiva negli anni pur con deambulazione conservata. L'istologia mostrava il caratteristico pattern di sofferenza muscolare e infiltrazione adiposa e la microscopia elettronica ha permesso di rilevare segni di miopatia quali inclusioni sarcoplasmici che, vacuoli delimitati da orletti rossastri e inclusioni sarcoplasmatiche, alcune con caratteristiche amiloide-simile. Analisi bioinformatiche e studi su colture cellulari hanno dimostrato che le mutazioni missense aumentano la tendenza all'aggregazione della proteina SMPX che, quando overespressa, localizza in durevoli granuli-da-stress cellulare.

Johari M, Sarparanta J, Vihola A, Jonson PH, Savarese M, Jokela M, Torella A, Piluso G, Said E, Vella N, Cauchi M, Magot A, Magri F, Mauri E, Kornblum C, Reimann J, Stojkovic T, Romero NB, Luque H, Huovinen S, Lahermo P, Donner K, Comi GP, Nigro V, Hackman P, Udd B.

Missense mutations in small muscle protein X-linked (SMPX) cause distal myopathy with protein inclusions.

Acta Neuropathol. 2021 Aug;142(2):375-393. doi: 10.1007/s00401-021-02319-x. Epub 2021 May 11. PMID: 33974137; PMCID: PMC8270885. [IF = 17.088]

2.2) Coesistenza di canalopatia muscolare legata ai canali di cloro e sodio: un fenotipo complicato e una sfida diagnostica

Le miotonie non distrofiche comprendono le canalopatie del cloro e del sodio. Mutazioni in CLC-1 causano miotonia congenita dominante o recessiva, in cui la rigidità muscolare peggiora con l'inattività e migliora con l'esercizio, l'ipertrofia delle masse muscolari è frequente e compare debolezza negli arti inferiori. Mutazioni in Nav.1.4 possono causare paralisi periodica

normo/ipo/ipercaliemiche varie forme di miotonia, a seconda dell'alterazione funzionale della proteina canale. I pazienti con miotonia da sodio presentano generalmente rigidità dei muscoli facciali, ipersensibilità al freddo e dolore muscolare, mentre la miotonia è peggiorata dalla ripetizione dell'esercizio. Tuttavia, i soggetti con miotonia congenita o da sodio spesso hanno caratteristiche cliniche sovrapponibili, il che complica la diagnosi. Presentiamo qui una donna affetta da entrambe le malattie miotoniche e con un fenotipo complesso, che ha lungamente ritardato la diagnosi e la somministrazione della terapia farmacologica più idonea, contemporaneamente ad un consistente peggioramento nello svolgere le attività della vita quotidiana. Proprio in virtù della clinica poco canonica e poco compatibile con un'unica malattia, sono stati analizzati i geni che codificano i canali muscolari di cloro e sodio. Abbiamo rilevato una nuova variante in SCN4A, p.Glu1607del, e la mutazione p.Met4875Val su CLCN1. Questo caso ribadisce la necessità di una clinica per arrivare alla diagnosi genetica corretta. Questo lavoro ha prodotto un manoscritto attualmente in revisione sulla rivista

Pagliarani S, Meola G, Filareti M, Comi GP, Lucchiari S.

Sodium and Chloride muscle channelopathy coexistence: a complicated phenotype and a challenging diagnosis (sottomesso).

Frontiers in Neurology

2.3) Mutazioni nel gene CACNA1S in forme giovanili di Miopatia Congenita

Le Miopatie Congenite sono un gruppo eterogeneo di patologie muscolari ereditarie, che variano da forme neonatali gravi a manifestazioni più lievi con insorgenza nell'età adulta. Le caratteristiche cliniche principali comprendono ipotonia e debolezza della muscolatura prossimale e facciale, spesso associate a crisi respiratorie e coinvolgimento cardiaco. Sono classificate in base a specifiche caratteristiche istologiche ed ultrastrutturali della biopsia muscolare. Negli ultimi decenni sono stati associati alle Miopatie Congenite molti geni diversi, tra cui più recentemente anche il gene *CACNA1S*, codificante per la proteina canale Cav1.1, le cui alterazioni sono generalmente responsabili della paralisi periodica ipokaliemica e normokaliemica e dell'ipertermia maligna.

Attraverso l'analisi di Next Generation Sequencing di un pannello di malattie neuromuscolari congenite abbiamo identificato una rara mutazione eterozigote, potenzialmente patologica, in *CACNA1S* in una famiglia italiana i cui membri affetti mostravano diversi gradi di coinvolgimento muscolare e caratteristiche istopatologiche compatibili con una Miopatia Congenita ad insorgenza giovanile e nell'adulto. La mutazione è localizzata in un dominio funzionale importante, che consente la corretta apertura del canale; quindi, potrebbe essere alterato il meccanismo contrattile del muscolo scheletrico, influenzando l'omeostasi del tessuto.

Questo lavoro supporta l'idea di un coinvolgimento crescente di *CACNA1S* nelle Miopatie Congenite e propone di includere l'analisi di questo gene nei pannelli NGS per la diagnostica di queste patologie, specialmente nei casi con caratteristiche suggestive alla biopsia muscolare.

Mauri E, Piga D, Pagliarani S, Magri F, Manini A, Sciacco M, Ripolone M, Napoli L, Borellini L, Cinnante C, Cassandrini D, Corti S, Bresolin N, Comi GP, Govoni A.

CACNA1S mutation associated with a case of juvenile-onset congenital myopathy.

J Neurol Sci. 2021 Dec 15;431:120047. doi: 10.1016/j.jns.2021.120047. Epub 2021 Nov 3. PMID: 34763287. [IF = 3.307]

2.4) Identificazione di una co-morbidità DM1-MC in un paziente con un quadro miotonico atipico.

Nell'ambito delle miotonie, la variante patogenetica più frequente e più grave è costituita dall'espansione del gene DMPK, responsabile della Distrofia Miotonica di tipo 1 (DM1), malattia multisistemica che colpisce la muscolatura scheletrica, il cuore, gli occhi, l'apparato respiratorio ed endocrino, con ripercussioni sul sistema nervoso centrale. Al contrario, le miotonie non distrofiche colpiscono quasi esclusivamente la muscolatura. Tra queste, la canalopatia del canale del cloro,

CLC-1, causa miotonia congenita (MC), a carattere dominante o recessivo. Questo studio è relativo a un paziente con storia familiare paucisintomatica e con miotonia solo alle mani, alleviata dalla somministrazione di mexiletina. L'analisi molecolare ha identificato un'espansione nel range E1 in DMPK, ereditata dal padre, e la mutazione p.Gly276Ser, non ancora caratterizzata ma situata in un p, sul gene CLCN1, di eredità materna. In letteratura era stato descritto in precedenza un solo caso di comorbidità questo tipo, ma il fenotipo relativamente lieve del nostro paziente, con lievi modeste alterazioni istologiche e di splicing dei geni normalmente colpiti, ci ha indotto ad ipotizzare che la mutazione sul canale del cloro possa attenuare il quadro clinico complessivo.

Locci S, Cardani R, Brunori P, Lucchiari S, Comi GP, Federico A, De Stefano N, Meola G, Mignarri A.

Co-occurrence of DMPK expansion and CLCN1 mutation in a patient with myotonia.

Neurol Sci. 2021 Dec;42(12):5365-5368. doi: 10.1007/s10072-021-05538-y. Epub 2021 Aug 13. PMID: 34386887. [IF = 3.307]

2.5) Identificazione della mutazione p.Asn1180Ile sul gene SCN4A in una famiglia con miopatia e sindrome miotonica.

Un'importante distinzione nell'ambito delle malattie miotoniche è data dal carattere distrofico o non distrofico dei muscoli della persona affetta. Le miotonie non distrofiche si distinguono per l'assenza di debolezza progressiva e coinvolgimento sistemico extramuscolare. Tra queste, le canalopatie associate ad alterazioni nel canale del sodio SCN4A si configurano come malattie neuromuscolari severe, e comprendono le Paralisi Periodiche ipo/ipercaliemiche, la Paramiotonia Congenita e le Miotonie del canale del sodio. In questo caso abbiamo studiato due membri di una famiglia italiana, padre e figlio, entrambi con la mutazione sul residuo di asparagina 1180 (p.Asn1180Ile), non descritta in precedenza ma compatibile con alterazioni nella funzionalità del canale, e caratterizzati da un quadro clinico complesso di miopatia e miotonia che si discosta dal classico fenotipo miotonico. Possiamo concludere che, nei casi di compresenza dei due fenomeni, sia utile analizzare canale del sodio muscolare.

Rigamonti A, Mantero V, Peverelli L, Pagliarani S, Lucchiari S, Comi G, Gibertini S, Salmaggi A. *p.Asn1180Ile mutation of SCN4A gene in an Italian family with myopathy and myotonic syndrome.*

Neurol Sci. 2021 Dec;42(12):5359-5363. doi: 10.1007/s10072-021-05537-z. Epub 2021 Aug 11. PMID: 34378097. [IF = 3.307]

2.6) Importanza delle valutazioni strumentali precoci nei casi neonatali di Miopatia Congenita associata a RYR1

Le Miopatie Congenite associate a RYR1 (Ryanodine receptor type 1) sono il sottogruppo di miopatie congenite più rappresentato. RYR1 è un gene molto grande codificante per il canale del Ca²⁺ del muscolo scheletrico. Le mutazioni in RYR1 causano tipicamente un'elevata eterogeneità clinica ed un'istopatologia muscolare caratterizzata prevalentemente dalla presenza di central core o multiminicore. Talvolta, negli stadi molto precoci della malattia, l'istologia muscolare può essere ingannevole, perché i core possono non essere apprezzabili, di conseguenza sono necessarie altre indagini strumentali.

Ad oggi sono stati pubblicati pochi articoli sulla valutazione strumentale precoce nei casi neonatali. A tale scopo, abbiamo valutato un gruppo di pazienti affetti da questa patologia focalizzandoci su quattro casi neonatali, che si presentavano con un fenotipo congenito grave e su cui è stata fatta una caratterizzazione completa fin dai primi mesi di vita. Attraverso analisi di microscopia elettronica su campioni di biopsia muscolare si sono riscontrate, già precocemente, le caratteristiche tipiche della Miopatia Congenita. In due pazienti è stata effettuata la risonanza magnetica del cervello nei primi mesi di vita, mentre per un paziente è stata fatta nel periodo fetale. L'elettromiografia eseguita precocemente ha permesso di escludere segni neurogeni, mentre la risonanza magnetica muscolare fatta nei primi anni ha evidenziato il coinvolgimento muscolare tipico delle Miopatie

Congenite da RYR1. Il sospetto clinico è stato confermato mediante analisi genetica, utilizzando un pannello di Next generation sequencing.

Questo lavoro dimostra che l'utilizzo di più analisi strumentali a livello precoce permette una diagnosi rapida ed efficace, fondamentale per una pronta gestione medica del paziente.

Mauri E, Piga D, Govoni A, Brusa R, Pagliarani S, Ripolone M, Dilella R, Cinnante C, Sciacco M, Cassandrini D, Nigro V, Bresolin N, Corti S, Comi GP, Magri F.

Early Findings in Neonatal Cases of RYR1-Related Congenital Myopathies.

Front Neurol. 2021 Jun 28;12:664618. doi: 10.3389/fneur.2021.664618. PMID: 34262519; PMCID: PMC8273285. [IF = 3.552]

2.7) Intraprendere la terapia antiretrovirale in infezioni da HIV in pazienti affetti da malattia mitocondriale.

Sia l'infezione da HIV non trattata che diversi farmaci antiretrovirali sono stati collegati al danno mitocondriale. Qui, descriviamo il caso di un paziente HIV con preesistente malattia mitocondriale, per discutere le sfide dell'inizio del trattamento antiretrovirale (ART). Attualmente in letteratura, non esistono dati sull'inizio del trattamento antiretrovirale nei pazienti affetti da HIV con malattia mitocondriale preesistente, nonostante ci siano segnalazioni di adulti che sviluppano quadri clinici che mimano per certi aspetti le malattie mitocondriali come conseguenza di un'infezione da HIV a lungo termine e/o come effetti avversi di anni di ART.

L'interazione tra HIV, ART e danno mitocondriale è complessa. Da un lato, la letteratura ha collegato la replicazione dell'HIV al danno mitocondriale, in particolare come fattore determinante per lo sviluppo di disturbi neurocognitivi associati all'HIV, convalidando ulteriormente la necessità di un rapido avvio dell'ART. D'altra parte, esistono prove che l'ART induce disfunzione mitocondriale negli individui con infezione da HIV di per sé. Diversi studi sull'animale mostrano però che non tutti i farmaci hanno danno la stessa entità di danno mitocondriale.

La nostra decisione è stata l'inizio di un regime lamivudine (3TC) + dolutegravir (DTG). A 12 mesi, la combinazione si è finora dimostrata ben tollerata ed efficace. Tuttavia, sono necessari ulteriori studi con un follow-up di anni per comprendere meglio questa popolazione rara e fragile.

Bozzi G, Meneri M, Peri AM, Taramasso L, Muscatello A, Bandera A, Comi GP, Gori A.

Starting HIV therapy in patients with mitochondrial disease.

AIDS. 2021 Oct 1;35(12):2063-2065. doi: 10.1097/QAD.0000000000002996. PMID: 34471077. [IF = 4.511]

2.8) Ruolo della disfunzione mitocondriale in modelli cellulari di steatosi epatica non alcolica con alterazioni genetiche nei geni di suscettibilità TM6SF2, MBOAT7 e PNPLA3.

Accanto allo studio di numerose malattie genetiche di origine neurologica, il nostro impegno è anche rivolto al miglioramento della comprensione di malattie più comuni, oggetto di ricerca di colleghi all'interno del Policlinico a cui il nostro Centro fornisce expertise tecnica e strumentale. E' il caso di questo studio che ha indagato modelli cellulari di steatosi epatica non alcolica (NAFLD), focalizzandosi sul contributo dei geni TM6SF2, MBOAT7 e PNPLA3. Inizialmente lo studio ha valutato il ruolo del genotipo di alcune varianti polimorfiche di questi geni nel contribuire alla NAFLD. Lo sviluppo di modelli cellulari (cellule epatiche) ingegnerizzati ha messo in luce l'accumulo micro-vescicolare di lipidi e, in un gruppo di cellule, anche di alterazioni nel reticolo endoplasmatico e nei mitocondri, importanti strutture subcellulari. Il nostro gruppo ha contribuito allo studio della disfunzione mitocondriale mediante analisi biochimiche, molecolari, istologiche e ultrastrutturali dimostrando come alcuni genotipi fossero associati ad una alterata funzionalità dei mitocondri in grado di produrre un cambiamento metabolico dal metabolismo ossidativo verso la glicolisi. Questo cambiamento si traduce anche in un aumento della capacità proliferativa delle cellule che fa da innesco alla progressione tumorale (epatocarcinoma) che può essere l'esito più grave di NAFLD. La ri-espressione dei geni normali ha consentito di ripristinare le anomalie

metaboliche e le caratteristiche cellulari associate allo stato iper-proliferativo osservato nei modelli cellulari.

Questo studio ha consentito di chiarire le conseguenze cellulari e biochimiche associate a varianti in geni che predispongono alla NAFLD. Ancora più importante è la correlazione di queste alterazioni con l'accumulo di lipidi e la tendenza alla proliferazione cellulare che sono elementi di grande importanza prognostica nell'analisi dei campioni biotici di fegato dei pazienti con questa patologia.

Carli F, Fortunato F, Ronchi D, Piciotti R, Sabatini S, Macchi C, Alisi A, Miele L, Soardo G, Comi GP, Valenti L, Ruscica M, Fracanzani AL, Gastaldelli A, Dongiovanni P.

TM6SF2/PNPLA3/MBOAT7 Loss-of-Function Genetic Variants Impact on NAFLD Development and Progression Both in Patients and in In Vitro Models.

Cell Mol Gastroenterol Hepatol. 2021 Nov 23:S2352-345X(21)00241-1. doi: 10.1016/j.jcmgh.2021.11.007. Epub ahead of print. PMID: 34823063. [IF = 9.225]

3) Amiotrofia Spinale, Sclerosi Laterale Amiotrofica e altre malattie del motoneurone

3.1) Atrofia Muscolare spinale di tipo 1: confronto tra neonati trattati con risdiplam e controlli storici

L'atrofia muscolare spinale di tipo 1 (SMA 1) è una malattia genetica neuromuscolare con prognosi infausta se non trattata che esordisce nei primi 6 mesi di vita, causata da bassi livelli della proteina Survival Motor Neuron (SMN). Risdiplam è una piccola molecola somministrata per via orale che modifica lo splicing dell'RNA pre-messaggero di SMN2 e aumentando i livelli di proteina SMN funzionale nel sangue.

In questo lavoro abbiamo riportato i dati di uno studio su neonati affetti da SMA di tipo 1 trattati con Risplam dall'età compresa tra 1 e 7 mesi. La prima parte dello studio (pubblicata in precedenza) ha determinato la dose utilizzata nella seconda parte (riportata qui), che ha valutato l'efficacia e la sicurezza del risdiplam rispetto al gruppo controllo storico mai sottoposti a trattamento.

L'endpoint primario era la capacità di sedersi senza supporto per almeno 5 secondi dopo 12 mesi di trattamento. Gli endpoint secondari chiave erano: un punteggio di 40 o superiore al Children's Hospital of Philadelphia Infant Test of Neuromuscular Disorders (CHOP-INTEND), un aumento di almeno 4 punti da basale nel punteggio CHOP-INTEND, la risposta motoria valutata con la scala dell'Hammersmith Infant Neurological Examination (HINE-2) e la sopravvivenza senza la necessità della ventilazione assistita permanente.

Sono stati arruolati un totale di 41 bambini trattati con Risdiplam. Dopo 12 mesi di trattamento, 12 bambini (29%) erano in grado di stare seduti senza supporto per almeno 5 secondi. Il 56% dei neonati trattati rispetto al 17% dei controlli storici hanno raggiunto un punteggio CHOP-INTEND di 40 o superiore; nel 90% dei trattati rispetto a 17 % dei controlli si è verificato un aumento di almeno 4 punti rispetto al basale nella scala CHOP-INTEND; la risposta motoria HINE 2 è stata del 78% nei trattati rispetto al 12% dei controlli; infine la sopravvivenza senza il supporto respiratorio permanente è stata raggiunta nell'85% dei trattati rispetto al 42% dei controlli ($P < 0,001$ per tutti i confronti). Gli eventi avversi gravi più comuni sono stati polmonite, bronchiolite, ipotonia e insufficienza respiratoria.

In questo studio che ha coinvolto bambini con SMA di tipo 1, i pazienti trattati con risdiplam hanno raggiunto le tappe motorie dello sviluppo e hanno mostrato miglioramento delle funzioni motorie rispetto ai pazienti osservati nelle coorti storiche. Sono necessari ulteriori studi a lungo termine per determinare la sicurezza e l'efficacia di risdiplam nei neonati con SMA di tipo 1.

Darras BT, Masson R, Mazurkiewicz-Beldzińska M, Rose K, Xiong H, Zanoteli E, Baranello G, Bruno C, Vlodavets D, Wang Y, El-Khairi M, Gerber M, Gorni K, Khwaja O, Kletzl H, Scalco RS, Fontoura P, Servais L; FIREFISH Working Group.

Risdiplam-Treated Infants with Type 1 Spinal Muscular Atrophy versus Historical Controls. N

Engl J Med. 2021 Jul 29;385(5):427-435. doi: 10.1056/NEJMoa2102047. PMID: 34320287. [IF = 91.245]

3.2) Risdiplam nel trattamento dei neonati affetti da Atrofia muscolare spinale di tipo 1

L'atrofia muscolare spinale di tipo 1 (SMA 1) è una malattia neuromuscolare degenerativa causata da bassi livelli della proteina Survival Motor Neuron (SMN). Risdiplam è una piccola molecola somministrata per via orale che modifica lo splicing dell'RNA pre-messaggero SMN2 aumentando i livelli di proteina SMN funzionale.

In questo lavoro sono riportati i risultati della prima parte di uno studio di fase 2-3, di trattamento con risdiplam in bambini di età compresa tra 1 e 7 mesi affetti da SMA 1. Come outcome primari sono stati valutati: la sicurezza, la farmacocinetica, la farmacodinamica (inclusa la concentrazione di proteine SMN nel sangue) e la selezione della dose di risdiplam per la successiva seconda parte dello studio. Gli outcome secondari includevano la capacità di sedersi senza supporto per almeno 5 secondi.

Sono stati arruolati un totale di 21 bambini suddivisi in: 4 bambini trattati a basso dosaggio con dose finale al 12° mese di 0,08 mg Kg/die e 17 bambini trattati ad alto dosaggio con una dose finale al 12° mese di 0,2 mg Kg/die. Le concentrazioni della proteina SMN basale era in media di 1,31 ng/mL nella coorte a basso dosaggio e 2,54 ng/mL nella coorte ad alto dosaggio; dopo 12 mesi di trattamento i valori sono aumentati rispettivamente a 3,05 ng/mL e 5,66 ng/mL. Gli eventi avversi gravi includevano polmonite, infezione delle vie respiratorie e insufficienza respiratoria acuta. Al momento della pubblicazione, 4 bambini erano morti per complicazioni respiratorie.

Sette bambini nella coorte ad alto dosaggio e nessun bambino nella coorte a basso dosaggio sono stati in grado di sedersi senza supporto per almeno 5 secondi. Visti i risultati ottenuti la dose più alta di risdiplam (0,2 mg kg/die) è stata selezionata come quella adeguata per la seconda parte dello studio. I dati ottenuti mostrano che nei neonati affetti da SMA 1, il trattamento con risdiplam orale ha portato ad un'aumentata espressione della proteina funzionale SMN nel sangue.

Baranello G, Darras BT, Day JW, Deconinck N, Klein A, Masson R, Mercuri E, Rose K, El-Khairi M, Gerber M, Gorni K, Khwaja O, Kletzl H, Scalco RS, Seabrook T, Fontoura P, Servais L; FIREFISH Working Group. *Risdiplam in Type 1 Spinal Muscular Atrophy.*

N Engl J Med. 2021 Mar 11;384(10):915-923. doi: 10.1056/NEJMoa2009965.

Epub 2021 Feb 24. PMID: 33626251. [IF = 91.245]

3.3) Studio clinico in pazienti SMA1 trattati con terapia genica (Onasemnogene abeparvovec): valutazione della sicurezza e dell'efficacia in una coorte europea

L'amiotrofia spinale (SMA) è una rara forma di malattia neuromuscolare dovuta a mutazioni bialleliche nel gene SMN1 che portano alla perdita di funzione dei motoneuroni. Il nostro Centro è un riferimento internazionale per la diagnosi, la ricerca clinica e preclinica e la terapia di questa condizione. In questo studio europeo (STRIVE-EU) abbiamo verificato la sicurezza e l'efficacia della prima terapia genica sviluppata per la SMA e basata sulla somministrazione sistemica di onasemnogene abeparvovec in bambini affetti da SMA di tipo 1, arruolati con criteri allargati rispetto allo studio americano STRIVE-US.

Abbiamo arruolato pazienti di età inferiore ai 6 mesi con SMA di tipo 1 documentata da diagnosi molecolare e la presenza di 1-2 copie del gene modificatore SMN2. I pazienti hanno ricevuto un dosaggio di 1×10^{14} particelle virali per chilogrammo. Il follow up è consistito nell'analisi a 7 giorni dall'infusione e ogni mese fino alla fine dello studio. In tutto sono stati considerati eleggibili per il trattamento 41 pazienti. 32 pazienti su 33 hanno completato lo studio (18 mesi) riuscendo a raggiungere l'endopoint primario (capacità di sedersi in autonomia per almeno 10 secondi ad ogni

visita). 31 pazienti non hanno richiesto supporto respiratorio a 14 mesi come invece accaduto per 6 dei 23 pazienti della coorte di storia naturale. 32 pazienti hanno sviluppato almeno un evento avverso e per 6 di loro è stato considerato grave e collegabile alla terapia genica ricevuta. Gli eventi avversi più comuni sono stati: piressia, infezioni delle alte vie respiratoria, alterazioni negli enzimi epatici. Un paziente è morto per danno cerebrale ipossico-ischemico non correlabile alla terapia genica.

Il nostro studio ha confermato che il trattamento con onasemnogene abeparvovec di pazienti infantili SMA1 è sicuro e non ha presentato nuovi allarmi relativamente alla tossicità. Il profilo rischio-beneficio sembra favorevole in questo gruppo di pazienti sebbene l'utilità clinica dovrà essere valutata anche in casi con sintomi più gravi. Dovrà anche essere valutata la presenza di eventi avversi nel lungo periodo.

Mercuri E, Muntoni F, Baranello G, Masson R, Boespflug-Tanguy O, Bruno C, Corti S, Daron A, Deconinck N, Servais L, Straub V, Ouyang H, Chand D, Tauscher-Wisniewski S, Mendonca N, Lavrov A; STRIVE-EU study group.

Onasemnogene abeparvovec gene therapy for symptomatic infantile-onset spinal muscular atrophy type 1 (STRIVE-EU): an open-label, single-arm, multicentre, phase 3 trial.

Lancet Neurol. 2021 Oct;20(10):832-841. doi: 10.1016/S1474-4422(21)00251-9. PMID: 34536405. [IF = 44.182]

3.4) Revisione e commento sulle strategie terapeutiche per l'amiotrofia spinale.

L'amiotrofia spinale (SMA) è la più comune malattia neurodegenerativa pediatrica dovuta a mutazioni nel gene SMN1 che compromettono la sopravvivenza dei motoneuroni del midollo spinale. Esistono da pochi anni tre rivoluzionarie terapie per la SMA: due si basano sul recupero dello splicing fisiologico del gene SMN2 con un approccio basato sulla somministrazione intratecale di oligonucleotidi antisense (Spinraza/Nusinersen) o mediante l'uso di un farmaco orale (Risdiplam) mentre la terza via è la somministrazione sistemica di un vettore AAV9 per la terapia genica (onasemnogene abeparvovec/Zolgensma). La disponibilità di queste terapie e la necessità di scegliere un approccio rispetto ad un altro apre una discussione anche di natura etica ed economica (relativamente al costo di queste nuove cure). In questa revisione dei dati di letteratura abbiamo considerato lo stato dell'arte sulle attuali terapie disponibili per questa malattia e commentato le sfide ancora aperte per la messa a punto di strategie ancora più efficaci.

Messina S, Sframeli M, Maggi L, D'Amico A, Bruno C, Comi G, Mercuri E.

Spinal muscular atrophy: state of the art and new therapeutic strategies.

Neurol Sci. 2021 Apr 19. doi: 10.1007/s10072-021-05258-3. Epub ahead of print. PMID: 33871750. [IF = 3.307]

3.5) Studio della variante SOD1 Leu144Ser identificata in omozigosi in un caso familiare di SLA con esordio precoce e progressione rapida.

La Sclerosi laterale amiotrofica (SLA) è una malattia neurodegenerativa devastante caratterizzata dalla degenerazione dei motoneuroni che porta ad una progressiva atrofia e debolezza muscolare fino ad una fatale paralisi respiratoria. In questo studio abbiamo descritto una nuova famiglia di origine Iraniana caratterizzata da una forma di SLA ad esordio precoce e decorso particolarmente grave. Tre membri affetti di questa famiglia sono nati da genitori consanguinei ed hanno sviluppato una forma di SLA con iniziale coinvolgimento degli arti inferiori e una rapida progressione esitata nel decesso. Le analisi molecolari hanno rivelato nei soggetti affetti la variante c.434T>C in omozigosi nel gene SOD1 (che codifica per l'enzima superossido-dismutasi rame-zinco) in grado di produrre il cambiamento amminoacidico da Leucina a Serina al codone 144 (p.Leu144Ser). Questa variante era stata precedentemente riportata in molti pazienti SLA in forma eterozigote e con una chiara trasmissione dominante. La madre dei probandi è risultata portatrice in eterozigosi di questa mutazione e solo tardivamente ha sviluppato SLA con principale coinvolgimento del primo motoneurone.

Il nostro studio identifica per la prima volta la mutazione Leu144Ser in forma omozigote e suggerisce la presenza di un fenotipo particolarmente aggressivo quando la variante si presenta in forma biallelica. Lo studio dei casi famigliari, in particolari di quelli con un fenotipo precoce, fornisce nuovi dati utili per la comprensione dei meccanismi patogenetici sottostanti alle mutazioni nel gene SOD1, una conoscenza necessaria per lo sviluppo di efficaci terapie.

Gagliardi D, Ahmadinejad M, Del Bo R, Meneri M, Comi GP, Corti S, Ronchi D. *Homozygous SOD1 Variation L144S Produces a Severe Form of Amyotrophic Lateral Sclerosis in an Iranian Family*.

Neurol Genet. 2021 Dec 16;8(1):e645. doi: 10.1212/NXG.0000000000000645. PMID: 34926808; PMCID: PMC8678909. [IF = 3.485]

3.6) Identificazione di 15 loci considerati fattori di rischio per la patogenesi della Sclerosi Laterale Amiotrofica

La Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA) rappresenta una malattia neurodegenerativa fatale dell'adulto. In questo studio internazionale multicentrico sono stati analizzati mediante le più avanzate tecniche di analisi genetica di nuova generazione (in questo caso studi associativi di tipo genome-wide che permettono di analizzare contemporaneamente tutti i geni di un individuo) quasi 30000 pazienti affetti da SLA di tipo sporadica e oltre 120000 soggetti controllo neurologicamente sani. A tutt'oggi questo studio rappresenta in termini di numerosità dei soggetti arruolati il più esteso studio GWA mai condotto in ambito SLA. Il confronto delle varianti osservate nel gruppo pazienti con quelle osservate nei soggetti sani ha portato ad individuare 15 loci considerati fattori di rischio per lo sviluppo della malattia e/o fattori modificatori del fenotipo clinico. Tra questi, 8 loci erano già stati riportati in precedenti studi (come ad esempio SOD1, C9orf72, KIF5A e TBK1 per citare i più noti). Il confronto tra le frequenze delle varianti osservate ha portato ad individuare anche una serie di loci "a rischio" (in particolare GAK e TSPOAP1-AS1) fino ad ora non evidenziati dai precedenti studi e soprattutto di evidenziare correlazioni genetiche tra diverse malattie neurodegenerative (SLA e malattia di Parkinson, SLA e malattia di Alzheimer), convalidando ulteriormente il presupposto di comuni meccanismi patogenetici per le diverse malattie neurodegenerative. Le varianti individuate interessano geni implicati in vie metaboliche specifiche e correlate ai processi neurodegenerativi anche di altre malattie quali i meccanismi di trasporto vescicolare tra apparato di Golgi e reticolo endoplasmatico, l'autofagia con evidenza dell'interessamento primitivo dei motoneuroni glutammatergici.

van Rheenen W, van der Spek RAA, Bakker MK, van Vugt JJFA, Hop PJ, Zwaborn RAJ, de Klein N, Westra HJ, Bakker OB, Deelen P, Shireby G, Hannon E, Moisse M, Baird D, Restuadi R, Dolzhenko E, Dekker AM, Gawor K, Westeneng HJ, Tazelaar GHP, van Eijk KR, Kooyman M, Byrne RP, Doherty M, Heverin M, Al Khleifat A, Iacoangeli A, Shatunov A, Ticozzi N, Cooper-Knock J, Smith BN, Gromicho M, Chandran S, Pal S, Morrison KE, Shaw PJ, Hardy J, Orrell RW, Sendtner M, Meyer T, Başak N, van der Kooij AJ, Ratti A, Fogh I, Gellera C, Lauria G, Corti S, Cereda C, Sproviero D, D'Alfonso S, Sorarù G, Siciliano G, Filosto M, Padovani A, Chiò A, Calvo A, Moglia C, Brunetti M, Canosa A, Grassano M, Beghi E, Pupillo E, Logroscino G, Nefussy B, Osmanovic A, Nordin A, Lerner Y, Zabari M, Gotkine M, Baloh RH, Bell S, Vourc'h P, Corcia P, Couratier P, Millicamps S, Meininger V, Salachas F, Mora Pardina JS, Assialioui A, Rojas-García R, Dion PA, Ross JP, Ludolph AC, Weishaupt JH, Brenner D, Freischmidt A, Bensimon G, Brice A, Durr A, Payan CAM, Saker-Delye S, Wood NW, Topp S, Rademakers R, Tittmann L, Lieb W, Franke A, Ripke S, Braun A, Kraft J, Whiteman DC, Olsen CM, Uitterlinden AG, Hofman A, Rietschel M, Cichon S, Nöthen MM, Amouyel P; SLALOM Consortium; PARALS Consortium; SLAGEN Consortium; SLAP Consortium, Traynor BJ, Singleton AB, Mitne Neto M, Cauchi RJ, Ophoff RA, Wiedau-Pazos M, Lomen-Hoerth C, van Deerlin VM, Grosskreutz J, Roediger A, Gaur N, Jörk A, Barthel T, Theele E, Ilse B, Stubendorff B, Witte OW, Steinbach R, Hübner CA, Graff C, Brylev L, Fominykh V, Demeshonok V, Ataulina A, Rogelj B, Koritnik B, Zidar J, Ravnik-

Glavač M, Glavač D, Stević Z, Drory V, Povedano M, Blair IP, Kiernan MC, Benyamin B, Henderson RD, Furlong S, Mathers S, McCombe PA, Needham M, Ngo ST, Nicholson GA, Pamphlett R, Rowe DB, Steyn FJ, Williams KL, Mather KA, Sachdev PS, Henders AK, Wallace L, de Carvalho M, Pinto S, Petri S, Weber M, Rouleau GA, Silani V, Curtis CJ, Breen G, Glass JD, Brown RH Jr, Landers JE, Shaw CE, Andersen PM, Groen EJM, van Es MA, Pasterkamp RJ, Fan D, Garton FC, McRae AF, Davey Smith G, Gaunt TR, Eberle MA, Mill J, McLaughlin RL, Hardiman O, Kenna KP, Wray NR, Tsai E, Runz H, Franke L, Al-Chalabi A, Van Damme P, van den Berg LH, Veldink JH.

Common and rare variant association analyses in amyotrophic lateral sclerosis identify 15 risk loci with distinct genetic architectures and neuron-specific biology.

Nat Genet. 2021 Dec;53(12):1636-1648. doi: 10.1038/s41588-021-00973-1. Epub 2021 Dec 6. PMID: 34873335; PMCID: PMC8648564. [IF = 38.333]

3.7) Varianti nel gene SPTLC1 si associano a forme giovanili di Sclerosi Laterale Amiotrofica

Le forme giovanili di Sclerosi Laterale Amiotrofica rappresentano una rara forma fatale di SLA e sono caratterizzate da esordio inferiore a 25 anni e da presentazioni cliniche assai variabili.

Mediante le più moderne tecniche di sequenziamento whole-genome sono stati analizzati e studiati pazienti affetti da forma giovanile di SLA. Varianti missenso de-novo (cioè presenti nei pazienti e non osservate nei genitori) nel gene SPTLC1 sono state osservate in 4 soggetti indipendenti. La stessa mutazione p.Ala20Ser è stata osservata in due pazienti. La patogenicità associata alla presenza di queste varianti è stata confermata da studi biochimici e cellulari in-vitro. SPTLC1 codifica per una proteina coinvolta nel metabolismo dei sfingolipidi e mutazioni a carico di questo gene sono state precedentemente riportate in pazienti affetti da forme ereditarie di neuropatie sensoriali autosomiche-dominanti di tipo 1A. In una seconda fase lo studio del gene SPTLC1 è stato esteso ad una coorte di 6200 pazienti adulti affetti da forme di SLA classica. In questo caso non è stata osservata alcuna variante causativa a carico del gene SPTLC1. I dati dello studio nel loro insieme suggeriscono quindi di analizzare il gene SPTLC1 in pazienti affetti da forme giovanili di SLA.

Johnson JO, Chia R, Miller DE, Li R, Kumaran R, Abramzon Y, Alahmady N, Renton AE, Topp SD, Gibbs JR, Cookson MR, Sabir MS, Dalgard CL, Troakes C, Jones AR, Shatunov A, Iacoangeli A, Al Khleifat A, Ticozzi N, Silani V, Gellera C, Blair IP, Dobson-Stone C, Kwok JB, Bonkowski ES, Palvadeau R, Tienari PJ, Morrison KE, Shaw PJ, Al-Chalabi A, Brown RH Jr, Calvo A, Mora G, Al-Saif H, Gotkine M, Leigh F, Chang IJ, Perlman SJ, Glass I, Scott AI, Shaw CE, Basak AN, Landers JE, Chiò A, Crawford TO, Smith BN, Traynor BJ; FALS Sequencing Consortium; American Genome Center; International ALS Genomics Consortium; and ITALSGEN Consortium, Smith BN, Ticozzi N, Fallini C, Gkazi AS, Topp SD, Scotter EL, Kenna KP, Keagle P, Tiloca C, Vance C, Troakes C, Colombrita C, King A, Pensato V, Castellotti B, Baas F, Ten Asbroek ALMA, McKenna-Yasek D, McLaughlin RL, Polak M, Asress S, Esteban-Pérez J, Stevic Z, D'Alfonso S, Mazzini L, Comi GP, Del Bo R, Ceroni M, Gagliardi S, Querin G, Bertolin C, van Rheenen W, Rademakers R, van Blitterswijk M, Lauria G, Duga S, Corti S, Cereda C, Corrado L, Sorarù G, Williams KL, Nicholson GA, Blair IP, Leblond-Manry C, Rouleau GA, Hardiman O, Morrison KE, Veldink JH, van den Berg LH, Al-Chalabi A, Pall H, Shaw PJ, Turner MR, Talbot K, Taroni F, García-Redondo A, Wu Z, Glass JD, Gellera C, Ratti A, Brown RH Jr, Silani V, Shaw CE, Landers JE, Dalgard CL, Adeleye A, Soltis AR, Alba C, Viollet C, Bacikova D, Hupalo DN, Sukumar G, Pollard HB, Wilkerson MD, Martinez EM, Abramzon Y, Ahmed S, Arepalli S, Baloh RH, Bowser R, Brady CB, Brice A, Broach J, Campbell RH, Camu W, Chia R, Cooper-Knock J, Ding J, Drepper C, Drory VE, Dunckley TL, Eicher JD, England BK, Faghri F, Feldman E, Floeter MK, Fratta P, Geiger JT, Gerhard G, Gibbs JR, Gibson SB, Glass JD, Hardy J, Harms MB, Heiman-Patterson TD, Hernandez DG, Jansson L, Kirby J, Kowall NW, Laaksovirta H, Landeck N, Landi F, Le Ber I, Lumbroso S, MacGowan DJL, Maragakis NJ, Mora G, Mouzat K, Murphy NA, Myllykangas L, Nalls MA, Orrell RW, Ostrow LW, Pamphlett R, Pickering-Brown S, Pioro EP,

Pletnikova O, Pliner HA, Pulst SM, Ravits JM, Renton AE, Rivera A, Robberecht W, Rogaeva E, Rollinson S, Rothstein JD, Scholz SW, Sendtner M, Shaw PJ, Sidle KC, Simmons Z, Singleton AB, Smith N, Stone DJ, Tienari PJ, Troncoso JC, Valori M, Van Damme P, Van Deerlin VM, Van Den Bosch L, **Zinman L**, Landers JE, Chiò A, Traynor BJ, Angelocola SM, Ausiello FP, Barberis M, Bartolomei I, Battistini S, Bersano E, Bisogni G, Borghero G, Brunetti M, Cabona C, Calvo A, Canale F, Canosa A, Cantisani TA, Capasso M, Caponnetto C, Cardinali P, Carrera P, Casale F, Chiò A, Colletti T, Conforti FL, Conte A, Conti E, Corbo M, Cuccu S, Dalla Bella E, D'Errico E, DeMarco G, Dubbioso R, Ferrarese C, Ferraro PM, Filippi M, Fini N, Floris G, Fuda G, Gallone S, Gianferrari G, Giannini F, Grassano M, Greco L, Iazzolino B, Introna A, La Bella V, Lattante S, Lauria G, Liguori R, Logroscino G, Logullo FO, Lunetta C, Mandich P, Mandrioli J, Manera U, Manganelli F, Marangi G, Marinou K, Marrosu MG, Martinelli I, Messina S, Moglia C, Mora G, Mosca L, Murru MR, Origone P, Passaniti C, Petrelli C, Petrucci A, Pozzi S, Pugliatti M, Quattrini A, Ricci C, Riolo G, Riva N, Russo M, Sabatelli M, Salamone P, Salivetto M, Salvi F, Santarelli M, Sbaiz L, Sideri R, Simone I, Simonini C, Spataro R, Tanel R, Tedeschi G, Ticca A, Torriello A, Tranquilli S, Tremolizzo L, Trojsi F, Vasta R, Vacchiano V, Vita G, Volanti P, Zollino M, Zucchi E.

Association of Variants in the SPTLC1 Gene With Juvenile Amyotrophic Lateral Sclerosis.

JAMA Neurol. 2021 Oct 1;78(10):1236-1248. doi: 10.1001/jamaneurol.2021.2598. PMID: 34459874; PMCID: PMC8406220. [IF = 18.302]

3.8) Caso di associazione tra sindrome di Charcot-Marie-Tooth tipo 2F e mutazioni bialleliche HSBP1.

Lo scopo di questo studio era approfondire la conoscenza della genetica relativa alle malattie dipendenti da mutazioni in HSBP1. Si tratta di un gene che codifica per la heat shock protein 27, le cui mutazioni sono state correlate alla malattia assonale di Charcot-Marie-Tooth tipo 2F e alla neuropatia motoria distale ereditaria (dHMN). Due pazienti affetti da neuropatia assonale senso motoria sono stati dettagliatamente analizzati nella clinica, con studi neurofisiologici e sequenziamento di nuova generazione, seguita da analisi bioinformatica delle varianti genetiche e previsione funzionale delle proteine mutate. Abbiamo trovato due mutazioni, p.S135F and p.R136L, in omozigosi in due soggetti affetti. Entrambe le mutazioni sembrano alterare altamente conservato e erano state precedentemente correlate alla forma severa CMT2F/ dHMN, con un pattern ereditario strettamente dominante.

Abati E, Magri S, Meneri M, Manenti G, Velardo D, Balistreri F, Pisciotta C, Saveri P, Bresolin N, Comi GP, Ronchi D, Pareyson D, Taroni F, Corti S.

Charcot-Marie-Tooth disease type 2F associated with biallelic HSPB1 mutations.

Ann Clin Transl Neurol. 2021 May;8(5):1158-1164. doi: 10.1002/acn3.51364. Epub 2021 May 4. PMID: 33943041; PMCID: PMC8108422. [IF = 3.93]

3.9) Utilizzo degli organoidi neurali derivati da iPSC nella la ricerca di trattamenti farmacologici per le malattie neurologiche.

Nell'ultimo decennio, numerosi gruppi all'interno dell'ambiente accademico si sono dedicati allo studio e messa a punto di protocolli basati sulle cellule staminali pluripotenti indotte al fine di produrre organoidi neurali multicellulari e tridimensionali. La disponibilità di tali modelli per lo studio della biologia cerebrale, dello sviluppo neurale primitivo e delle patologie umane ha portato a nuove importanti scoperte sulla patofisiologia delle malattie neuropsichiatriche e neurologiche, tra cui microcefalia, autismo, Parkinson e Alzheimer. Tuttavia, l'uso degli organoidi per lo screening su larga scala nell'industria farmaceutica deve garantire riproducibilità, scalabilità e traslazione alle malattie umane. Esistono tecnologie innovative in grado di offrire delle potenziali soluzioni, quali il CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) per creare modelli isogenici; sequenziamento di RNA da singola cellula e programmi bioinformatica per l'analisi di enormi flussi di dati. Si aggiungono tecniche di imaging altamente informative, automazione sperimentale e

standardizzazione dei protocolli sperimentali. Su questo occorre lavorare per passare dal laboratorio alla produzione industriale di farmaci.

Costamagna G, Comi GP, Corti S.

Advancing Drug Discovery for Neurological Disorders Using iPSC-Derived Neural Organoids.

Int J Mol Sci. 2021 Mar 6;22(5):2659. doi: 10.3390/ijms22052659. PMID: 33800815; PMCID: PMC7961877. [IF = 5.923]

3.10) Identificazione di una nuova variante omozigote VPS11 come causa della distonia generalizzata.

In questo lavoro descriviamo l'associazione tra una nuova variante omozigote VPS11 e la distonia generalizzata ad esordio tardivo, attraverso un'analisi clinica accurata ed evidenze biologiche del meccanismo patogenetico. VPS11 è una sub unità del complesso homotypic fusion and protein sorting (HOPS) che promuove la fusione degli endosomi tardivi e degli autofagosomi con il lisosoma. Studi funzionali su fibroblasti mutati hanno mostrato anomalie spiccate a livello lisosomale e autofagico, parzialmente corrette dall'overespressione della proteina Vps11 wild type (normale).

Monfrini E, Cogiamanian F, Salani S, Straniero L, Fagioli G, Garbellini M, Carsana E, Borellini L, Biella F, Moggio M, Bresolin N, Corti S, Duga S, Comi GP, Aureli M, Di Fonzo A.

A Novel Homozygous VPS11 Variant May Cause Generalized Dystonia.

Ann Neurol. 2021 Apr;89(4):834-839. doi: 10.1002/ana.26021. Epub 2021 Feb 2. PMID: 33452836; PMCID: PMC8048445. [IF = 10.422]

3.11) Analisi del gene HTT in pazienti affetti da Sclerosi Laterale Amiotrofica con Demenza Frontotemporale

Nello studio è stato caratterizzato il ruolo dell'espansione del gene HTT (Huntingtina) nella patogenesi della demenza fronto-temporale/sclerosi laterale amiotrofica (FTD/ALS). Sono stati inclusi nello studio oltre 2400 pazienti con fenotipo FTD/ALS, 2600 pazienti affetti da demenza a corpi di Levy e oltre 3000 soggetti neurologicamente sani. Il gene HTT è stato trovato patologicamente espanso (40-64 CAG repeat) soltanto in tre soggetti affetti da ALS/FTD (pari allo 0.12% dei soggetti analizzati). Successivamente il dato è stato replicato in una coorte indipendente di 3674 pazienti FTD/ALS. Lo studio autoptico ha inoltre evidenziato in due pazienti con HTT espansa la presenza di aggregati TDP-43, huntingtina e ubiquitina positivi a carico della corteccia frontale. I risultati nel loro insieme mostrano una relazione eziologica tra le espansioni patologiche della huntingtina e il fenotipo clinico FTD/ALS; l'analisi del gene HTT dovrebbe quindi essere estesa anche sui pazienti affetti da FTD/ALS. Più in generale, i dati presentati evidenziano ancora una volta il ruolo causativo delle espansioni di specifici geni nella patogenesi delle malattie neurodegenerative.

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.** 2021 Feb 3;109(3):448-460.e4. doi: 10.1016/j.neuron.2020.11.005. Epub 2020 Nov 26. PMID: 33242422; PMCID: PMC7864894. [IF = 17.173]

3.12) Studio del valore diagnostico e prognostico dei livelli di neurofilamenti nel liquor di pazienti con malattia del motoneurone

Le malattie del motoneurone rappresentano un gruppo eterogeneo di disordini fatali caratterizzati da degenerazione delle cellule motoneuronali. La Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA) rappresenta la forma più diffusa tra le malattie del motoneurone. Scopo dello studio è l'individuazione di marcatori biologici in grado di discriminare tra i diversi fenotipi clinici che caratterizzano le forme di SLA. In questa ottica, sono stati misurati i livelli dei neurofilamenti presenti nel liquor di 32 pazienti affetti da SLA e di 12 pazienti affetti da SMA di tipo3; i livelli ottenuti sono stati confrontati con quelli di 97 soggetti controllo. I risultati descritti nello studio hanno evidenziato come i neurofilamenti a catena leggera (NfL) e i neurofilamenti fosforilati a catena pesante (p-NfH) siano significativamente aumentati nel liquor dei soggetti SLA rispetto ai controlli e rispetto anche ad altri tipi di malattie del motoneurone. All'interno della coorte dei pazienti SLA inclusi nello studio, tali livelli risultavano essere significativamente aumentati in pazienti aventi un decorso clinico molto aggressivo e rapido. La correlazione tra i livelli di neurofilamenti e la progressione della malattia rappresenta un importante marcatore diagnostico e prognostico nella SLA.

Gagliardi D, Faravelli I, Meneri M, Saccomanno D, Govoni A, Magri F, Ricci G, Siciliano G, Pietro Comi G, Corti S.

Diagnostic and prognostic value of CSF neurofilaments in a cohort of patients with motor neuron disease: A cross-sectional study.

J Cell Mol Med. 2021 Apr;25(8):3765-3771. doi: 10.1111/jcmm.16240. Epub 2021 Feb 20. PMID: 33609080; PMCID: PMC8051694. [IF = 5.310]

4) Malattie Cerebrovascolari

4.1) Studi clinico, neuroradiologico e genetico nelle forme familiari e sporadiche di angiomas cerebrali.

Gli angiomi cavernosi cerebrali (CCM) sono delle alterazioni di capillari dilatati che costituiscono la seconda alterazione vascolare più comune che interessa il sistema nervoso centrale. Possono essere asintomatici o essere la causa di eventi neurologici come emorragie cerebrali, epilessia, deficit neurologici focali, emicrania ricorrente. Mutazioni inattivanti sono state identificate nei geni KRIT1/CCM1, MGC4607/CCM2 and PDCD10/CCM3 in pazienti con forme familiari e sporadiche di CCM. In questo studio abbiamo analizzato una parte della nostra casistica di pazienti CCM riportando le caratteristiche cliniche e i dati molecolari. In tutto abbiamo raccolto dati clinici e radiologici di 30 individui in cui i geni malattia sono stati studiati mediante sequenziamento diretto o tecnica MLPA. 28 dei 30 pazienti inclusi nello studio presentava uno dei principali sintomi associati alla patologia, con emorragia spinale o cerebrale come sintomo più comune nel 43% dei casi. Una diagnosi molecolare è stata ottenuta nell'87% dei casi e 3 nuove mutazioni sono state identificate e caratterizzate. Studi di risonanza magnetica hanno mostrato che una regione cerebrale sembra maggiormente risparmiata nei pazienti negativi al test genetico.

Il nostro centro è ormai da anni un punto di riferimento per la diagnosi dell'angiomas cavernosa cerebrale e fa da referente clinico per uno studio multicentrico nazionale finanziato da AIFA volto a valutare l'efficacia del trattamento con propanolo in pazienti CCM. La raccolta dei dati clinici, neuroradiologici e genetici consente di individuare gli aspetti principali della storia naturale di questa condizione e consente di svelare correlazioni genotipo-fenotipo.

Lanfranconi S, Piergallini L, Ronchi D, Valcamonica G, Conte G, Marazzi E, Manenti G, Bertani GA, Locatelli M, Triulzi F, Bresolin N, Scola E, Comi GP.

Clinical, neuroradiological and genetic findings in a cohort of patients with multiple Cerebral Cavernous Malformations.

Metab Brain Dis. 2021 Oct;36(7):1871-1878. doi: 10.1007/s11011-021-00809-1. Epub 2021 Aug 6. PMID: 34357553. [IF = 2.638]

4.2) Studio delle conseguenze funzionali di varianti di splicing canoniche e non canoniche nei geni KRIT1 e PDCD10, associati a malformazioni cavernose cerebrali.

Gli angiomi cavernosi cerebrali sono una delle malformazioni vascolari più comuni nel sistema nervoso centrale associate a mutazioni eterozigoti nei geni KRIT1/CCM1, MGC4607/CCM2 o PDCD10/CCM3. Le proteine codificate interagiscono fra loro in un complesso multiproteico. Le varianti introniche non sono frequenti nelle forme famigliari e la loro interpretazione clinica è spesso inficiata dall'assenza di dati di laboratorio che supportino o smentiscano le predizioni effettuate con algoritmi in silico. In questo studio abbiamo fornito dati molecolari per l'interpretazione clinica di varianti introniche, includendo l'analisi del trascritto per due varianti introniche precedentemente non riportate (KRIT1 c.1147-7T>G e PDCD10 c.395+2T>G) e tre varianti già descritte in letteratura ma senza dimostrazioni funzionali della loro patogenicità. Abbiamo dimostrato che tutte le varianti portano alla perdita di espressione dell'allele che le ospita con alterazioni a carico della porzione terminale della proteina, indebolendo l'interazione proteina-proteina tra i membri del complesso CCM. I nostri risultati supportano l'uso dell'analisi di trascritto su linfociti come strumento per la validazione di anomali pattern di splicing in varianti presenti su siti canonici e non canonici.

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 Jun;99(6):829-835. doi: 10.1111/cge.13944. Epub 2021 Feb 25. PMID: 33604894. [IF = 4.104]

5) Malattie neurologiche ed emergenza COVID-19

5.1) Impatto del COVID-19 sulla qualità di vita dei pazienti con disturbi neuromuscolari nell'area Lombardia, Italia

I pazienti con malattie neuromuscolari, inclusi molti soggetti anziani, immunodepressi e disabili, potrebbero essere stati particolarmente colpiti durante la pandemia da Coronavirus-2019 (COVID-19) in Lombardia, un'area ad alta incidenza di COVID-19 tra febbraio e maggio 2020. Abbiamo mirato a valutare gli effetti della pandemia COVID-19 sulla qualità della vita (QoL) e sul carico di malattia percepito di questo gruppo di pazienti.

Abbiamo condotto uno studio trasversale sotto forma di sondaggio telefonico tra il 1° giugno e il 14 giugno 2020, su un campione di 240 pazienti con malattia neuromuscolare seguiti presso la nostra clinica a Milano, in Italia. Abbiamo chiesto informazioni sul carico percepito di malattia neuromuscolare e sulla QoL prima e durante la pandemia da COVID-19. Inoltre, abbiamo raccolto informazioni sull'accesso alle cure ambulatoriali e ai servizi ausiliari. Infine, abbiamo indagato la presenza di sintomi suggestivi di infezione da COVID-19 nella nostra coorte e descritto i casi confermati.

Abbiamo raccolto 205 risposte: 53 pazienti (25.9%) hanno riportato un peggioramento soggettivo della malattia neuromuscolare sottostante. Le misure di QoL hanno mostrato un significativo peggioramento durante il periodo pandemico (odds ratio: 2.14; intervallo di confidenza al 95%: 1.82-2.51). Le visite ambulatoriali sono state posticipate in più della metà dei casi (57.1%), con 104 pazienti (50.7%) che hanno subito una cancellazione degli esami diagnostici programmati. 79 pazienti (38.5%) hanno riportato almeno un sintomo attribuibile ad infezione da COVID-19. Tra i 10 pazienti testati con tamponi nasofaringei, 6 sono risultati positivi e 3 sono deceduti per insufficienza respiratoria, inclusi 2 pazienti in terapia con corticosteroidi/immunosoppressori.

Il nostro studio conferma che la pandemia di COVID-19 ha determinato un impatto sulla QoL e ha limitato l'accesso alle cure ambulatoriali e ai servizi ausiliari dei pazienti affetti da malattie neuromuscolari in Lombardia tra febbraio e maggio 2020.

Gagliardi D, Costamagna G, Abati E, Mauri E, Brusa R, Scudeller L, Andreoli L, Citterio G, Piccin E, Magri F, Meneri M, Velardo D, Sgiacco M, Bresolin N, Corti S, Comi GP.

Impact of COVID-19 on the quality of life of patients with neuromuscular disorders in the Lombardy area, Italy.

Muscle Nerve. 2021 Oct;64(4):474-482. doi: 10.1002/mus.27378. Epub 2021 Aug 3. PMID: 34296433; PMCID: PMC8441795. [IF = 2.496]

5.2) Caratteristiche cliniche e decorso della malattia dei pazienti con ictus ischemico acuto appena prima del caso indice italiano: il COVID-19 c'era già?

Dalla fine del febbraio 2020, l'Italia è stata colpita da uno dei focolai più gravi di infezione da coronavirus 2019 (COVID-19). Tuttavia, non è ancora noto cosa sia accaduto poco prima del caso indice italiano. Per rispondere a questa domanda, abbiamo valutato il potenziale impatto del COVID-19 sulle caratteristiche cliniche di una coorte di pazienti neurologici ricoverati poco prima del caso indice italiano, confrontato con lo stesso periodo dell'anno precedente. I dati demografici, clinici, terapeutici e di laboratorio sono stati estratti dalle cartelle cliniche. I dati raccolti includono tutti i pazienti ricoverati presso le Unità di Neurologia e Stroke Unit dell'Ospedale Maggiore Policlinico di Milano, Italia, dal 15 dicembre 2018 al 20 febbraio 2019 e dal 15 dicembre 2019 al 20 febbraio 2020. Su 248 pazienti, 97 soggetti (39.1%) sono stati ricoverati per un evento cerebrovascolare acuto: 46 nel periodo 2018-2019 (età media: 72.3 +/- 15.6 anni, di cui 22 uomini [47.8%]) e 51 nell'intervallo 2019-2020 (età media: 72.8 +/- 12.4 anni; di cui 24 uomini [47.1%]). Il numero di ictus criptogenici è aumentato durante l'anno 2019-2020 rispetto all'anno precedente (30 [58.8%] contro 18 [39.1%], $p = 0.05$). Questi pazienti hanno avuto una degenza più lunga (media delle giornate di ricovero 15.7 contro 11.7, $p = 0.03$) e complicanze cerebrovascolari più frequenti (9 [30%] contro 2 [11.1%]), ma presentavano una minore incidenza di fattori di rischio cerebrovascolare (18 [60%] vs. 14 [77.8%]). In conclusione, poco prima del caso indice italiano, si è verificato un aumento degli ictus criptogenici, probabilmente a causa del concomitante COVID-19.

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 Aug;16(5):1247-1252. doi: 10.1007/s11739-021-02634-x.

Epub 2021 Feb 10. PMID: 33565035; PMCID: PMC7872881. [IF = 3.397]

5.3) Trattamento dei pazienti con malattie neuromuscolari in pandemia da SARS-CoV-2.

La pandemia determinata dal Coronavirus disease-19 (COVID-19) comporta un aumento del rischio di grave decorso infettivo nei pazienti con malattie neuromuscolari (NMD), in particolare nei casi di NMD più severe. Condizioni ad alto rischio includono riduzione della funzionalità respiratoria per debolezza della muscolatura orofaringea, condizioni febbrili e ridotta possibilità di alimentazione. L'isolamento richiesto dai pazienti positivi all'infezione ha un profondo impatto sui trattamenti forniti in sede clinica, tra cui l'infusione di farmaci quali nusinersen, alfa-glucosidasi, endovene di immunoglobuline e rituximab. Inoltre, farmaci specifici ma ancora in fase di studio contro SARS-CoV2 impattano negativamente le funzioni neuromuscolari; la cloroquina e azitromicina non sono raccomandati in pazienti con miastenia gravis senza ventilazione adeguata possibilità di interrompere il decubito prolungato. Altri farmaci possono inficiare specifiche malattie neuromuscolari (metaboliche, mitocondriali, malattie miotoniche) e approcci sperimentali contro in virus SARS-CoV2 possono essere somministrati solo in via "compassionevole" e dopo consulto con il neurologo competente. Allo stesso tempo, la necessaria riorganizzazione di ospedali, ambulatori e servizi dedicati ai pazienti neuromuscolari ha reso più difficoltoso l'accesso alle cure anche per i non infetti. Inoltre, il supporto della telemedicina per tali pazienti è ridotto. In questo

lavoro, abbiamo fatto il punto sulla situazione pandemia e cercato di fornire notazioni pratiche che aiutino neurologi e specialisti delle NMD nella cura dei soggetti sensibili.

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. 2021 May;268(5):1580-1591. doi: 10.1007/s00415-020-10149-2. Epub 2020 Aug 17. PMID: 32804279; PMCID: PMC7429942. [IF = 4.849]

5.4) Eccessivo consumo della via del complemento in una donna di 26 con trombocitopenia trombotica indotta da vaccino anti Covid19 ChAdOx1 (Vaxzevria, AZ)

Sono state riportate in letteratura reazioni avverse estremamente rare come trombosi e trombocitopenia in soggetti che hanno ricevuto il vaccino per Covid19 Vaxzevria (ChAdOx1, Astra Zeneca) nei 5-16 giorni successivi all'iniezione. Nonostante sia noto che pazienti con trombocitopenia trombotica indotta da vaccino possano sviluppare anticorpi anti-PF4, non è chiaro il meccanismo con cui l'evento trombotico viene generato. In questo studio collaborativo abbiamo eseguito analisi di laboratorio, proteomiche e genomiche per studiare l'attivazione massiva del complemento come causa di anticorpi anti-PF4 in un paziente con una grave trombocitopenia trombotica indotta da vaccino. Le analisi sierologiche hanno mostrato una robusta attivazione del complemento e la presenza di anticorpi anti-PF4. L'analisi proteica della componente C2 ha mostrato la scomparsa della banda normale di 110 kDa. Il trattamento iniziato con immunoglobuline ha normalizzato queste alterazioni. Gli studi di proteomica e genomica hanno suggerito che l'assenza di attività del complemento durante la trombocitopenia trombotica indotta da vaccino era dovuta ad una massiva attivazione del complemento in grado di consumare la componente C2. Questo importante studio suggerisce il monitoraggio della via del complemento in pazienti con trombocitopenia trombotica indotta da vaccino e fornisce delle indicazioni per la gestione farmacologica di questi casi.

Cugno M, Macor P, Giordano M, Manfredi M, Griffini S, Grovetti E, De Maso L, Mellone S, Valenti L, Prati D, Bonato S, Comi G, Artoni A, Meroni PL, Peyvandi F.

Consumption of complement in a 26-year-old woman with severe thrombotic thrombocytopenia after ChAdOx1 nCov-19 vaccination.

J Autoimmun. 2021 Nov;124:102728. doi: 10.1016/j.jaut.2021.102728. Epub 2021 Sep 27. PMID: 34592707. [IF = 7.094]

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 tramite la partecipazione a numerose sperimentazioni cliniche, con specifico indirizzo per le patologie neuromuscolari. In particolare nel 2021 sono proseguite le sperimentazioni cliniche già iniziate negli anni precedenti in pazienti affetti da distrofinopatie (Distrofia muscolare di Duchenne DMD e Distrofia Muscolare di Becker (BMD), Amiotrofia Spinale (SMA) e Glicogenosi tipo II. A queste si sono aggiunte sperimentazioni con farmaci innovativi per la Polineuropatia Cronica infiammatoria Demielinizante e la Miastenia gravis. Nell'ambito delle Distrofie muscolari inoltre sono state poste le basi per la partenza di due sperimentazioni cliniche in pazienti affetti da Distrofia Muscolare dei Cingoli da deficit di sarcoglicano: uno studio di storia naturale e uno studio di terapia genica.

Le sperimentazioni svolte nel corso del 2021 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/14/2357/51 “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 givinostat in patients with Becker Muscular Dystrophy”

Sperimentazioni in pazienti affetti da Atrofia Muscolare Spinale

- BP39056 “A Two Part Seamless, Open-label, Multicenter Study to Investigate the Safety, Tolerability, Pharmacokinetics, Pharmacodynamics and Efficacy of RO7034067 in Infants With Type 1 Spinal Muscular Atrophy”
- BP39055 “A Two-Part Seamless, Multi-Center Randomized, Placebo-Controlled, Doubleblind Study to Investigate the Safety, Tolerability, Pharmacokinetics, Pharmacodynamics and Efficacy of RO7034067 in Type 2 and 3 Spinal Muscular Atrophy Patients”
- BP39054 “An open label study to investigate the safety, tolerability, and pharmacokinetics/ Pharmacodynamics of RO7034067 in adult and pediatric patients with spinal muscular atrophy”
- 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
- A Long-term Follow-up Study of Patients in the Clinical Trials for Spinal Muscular Atrophy Receiving”. AVXS-101-LT-002. NCT04042025.

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”

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

- Phase 2 trial to evaluate the efficacy, safety, and tolerability of efgartigimod PH20 SC in adult patients with chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP)". ARGX-113-1802.
- Open-label Extension of the ARGX-113-1802 Trial to Investigate the Long-term Safety, Tolerability, and Efficacy of Efgartigimod PH20 SC in Patients with Chronic Inflammatory Demyelinating Polyneuropathy (CIDP). ARGX-113-1902

Sperimentazioni in pazienti affetti da Miastenia Gravis

- MG (Viela Bio) Medpace A Randomized, Double-Blind, Multicenter, Placebo-Controlled Phase 3 Study with Open-Label Period to Evaluate the Efficacy and Safety of Inebilizumab in Adults with Myasthenia Gravis.

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

Lo studio sperimentale internazionale a cui partecipiamo valuta l'attività della molecola Givinostat in bambini affetti da Distrofia Muscolare di Duchenne. Questo farmaco è in fase di studio 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. 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) Studi Embark ed Envision - Terapia genica con vettore virale adeno-associato (AAV) in pazienti affetti da Distrofia Muscolare di Duchenne

Il nostro centro è stato 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. I due studi includeranno pazienti sia deambulanti sia non deambulanti. Questi studi si pongono come obiettivo di valutare l'efficacia del trasferimento genico della microdistrofina in termini di produzione della proteina e miglioramento funzionale. Le procedure di accreditamento per la terapia genica fase 1-3 sono state attualmente completate. Appena terminato l'iter burocratico (in attesa di approvazione da parte di AIFA), la sperimentazione partirà anche presso la nostra UO.

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).

Lo studio ha previsto l'arruolamento di 48 pazienti ed è attualmente concluso.

I primi dati relativi ai parametri morfologici muscolari microscopici e macroscopici pre-trattamento sono già stati pubblicati. L'analisi dei dati pre e post trattamento è in corso di analisi.

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 (*SMNΔ7*) 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, approvata in Agosto 2020 negli USA e ad aprile 2021 dall'EMA, verrà a breve messa in commercio con il nome di Evrysdi con indicazione al trattamento di pazienti con SMA 5q di età uguale o superiore a 2 mesi con diagnosi clinica di SMA di tipo 1, 2 o 3. Le sperimentazioni, tuttavia, proseguiranno per consentire la raccolta dei dati di sicurezza ed efficacia a lungo termine.

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

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.

I risultati di questi studi sono stati recentemente pubblicati ed hanno dimostrato una buona tollerabilità con pochi effetti collaterali e una buona efficacia, confermata dall'effetto biologico di aumento rapido e sostenute dei livelli di proteina SMN. L'efficacia del farmaco è maggiore quanto più precoce è l'intervento e maggiore la capacità motoria residua. In particolare, nei pazienti affetti da SMA I e SMA II si è assistito a un miglioramento delle performance motorie valutate tramite scale funzionali, mentre nei pazienti SMA III l'effetto del farmaco è consistito principalmente in una stabilizzazione del quadro clinico.

to evaluate long-term safety, tolerability and effectiveness of 10 mg/kg olexosime in patients with

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' attualmente in corso 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 a 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 infusionale 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 con Efgartigimod in pazienti affetti da CIDP

Nel 2021 è partita presso la nostra UO una sperimentazione di fase 2, prospettica, multicentrica volta a valutare l'efficacia, la sicurezza, la tollerabilità, l'immunogenicità, la farmacocinetica e la farmacodinamica di efgartigimod (ARGX-113) associato a ialuronidasi umana ricombinante PH20 (rHuPH20) (efgartigimod PH20 SC) somministrata per via sottocutanea (SC) in pazienti affetti da polineuropatia demielinizzante infiammatoria cronica (CIDP). Lo studio è volto a valutare se il farmaco abbia una maggiore efficacia rispetto alle terapie più convenzionali, che sono spesso non completamente soddisfacenti. Nel corso del 2021 è stata rivalutata la casistica di pazienti affetti da CIDP seguiti presso il Centro Dino Ferrari e presso altri Ospedali della Lombardia e sono stati selezionati 3 pazienti potenzialmente candidabili allo studio. Di questi uno ha effettuato le procedure di screening ed è risultato arruolabile nello studio.

6.8) Studio di storia naturale nelle sarcoglicanopatie e terapia genica nella Distrofia Muscolare dei Cingoli da deficit di beta-sarcoglicano

Le sarcoglicanopatie sono un sottogruppo di Distrofie Muscolari dei Cingoli (LGMD) dovute a mutazioni in uno dei 4 geni che codificano per i sarcoglicani. Al momento attuale non esistono terapie specifiche per questo gruppo di patologie. Tuttavia, potenziali nuovi approcci terapeutici, quali anche approcci di terapia genica, sono all'orizzonte

I dati relativi alla storia naturale di queste patologie sono ancora molto limitati. Una loro dettagliata conoscenza sarebbe tuttavia fondamentale per valutare l'efficacia di nuovi potenziali approcci terapeutici soprattutto se si considera la rarità e la estrema variabilità di queste forme. Questo consentirebbe di definire le migliori misure di outcome in grado di tracciare la progressione della patologia in un tasso di tempo relativamente ridotto è fondamentale per una buona riuscita delle sperimentazioni cliniche. Questo studio prevede la raccolta di dati clinici, funzionali, morfologici per la durata di 3 anni con frequenza semestrale. Verrà valutato il grado di compromissione muscolare tramite scale funzionali, il coinvolgimento cardiaco e quello respiratorio e la loro velocità di progressione nel tempo. I pazienti saranno sottoposti a RN cardiaca, muscolare scheletrica e laddove possibile a biopsia muscolare. Lo studio partirà nella prima metà del 2022.

In un sottogruppo di pazienti affetti da distrofia muscolare da deficit di beta-sarcoglicano partirà non appena approvata inoltre una terapia genica sperimentale, promosso da Sarepta.

LABORATORIO DI NEUROIMMUNOLOGIA CLINICA

Prof. Giacomo P. Comi
Dott.ssa Domenica Saccomanno

Neurologo
Biologa

Laboratorio di Neuroimmunologia: Certificazione di qualità INSTAND (europeo) anno 2021 inerente la diagnostica delle neuropatie periferiche disimmuni e delle sindromi neurologiche paraneoplastiche.

Attività diagnostica

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

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 gli anticorpi anti-GAD vengono indagati mediante due metodiche qualitative: l'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 (9), afferenti alla Neurologia della nostra Fondazione dal 2012 al 2021, testati per la ricerca di anticorpi anti-GAD, sono risultati tutti positivi al quantitativo mediante CLIA ed 1/9 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 testato tutti i campioni con la metodica ELISA. E' stato necessario effettuare diverse diluizioni del siero, riscontrando una positività agli anticorpi anti-GAD65 ad altissimo titolo, a conferma dei dati di letteratura sui titoli anticorpali decisamente più alti nei pazienti affetti da SMS.

La curva standard costruita per entrambe le metodiche quantitative in commercio (CLIA ed ELISA) utilizza come calibratori i campioni dei pazienti positivi agli anticorpi anti-GAD affetti da IDDM e non da SMS e questo spiegherebbe il basso titolo degli anticorpi della paziente affetta anche da IDDM e da altre comorbidità autoimmuni negativa alle nostre metodiche per le sindromi neurologiche paraneoplastiche. Un ulteriore test specifico, l'immunofluorescenza indiretta su cellule

trasfettate GAD65 e cellule di controllo, ci ha permesso infatti di confermare quanto evidenziato su cervelletto di scimmia.

La costruzione di una curva di calibrazione adattata per la SMS potrebbe rivelarsi quindi molto utile, in quanto il titolo degli anticorpi anti-GAD su siero ci permetterebbe di monitorare in modo quantitativo la risposta del paziente alla terapia.

Studio retrospettivo in una corte di pazienti con sindrome di Guillain-Barré: relazione tra concentrazione di sodio e grado di disabilità alla dimissione.

La sindrome di Guillain-Barré è una poliradiculopatia infiammatoria con complicanze potenzialmente molto gravi. Nonostante i criteri clinici per la stratificazione del rischio, non esistono biomarcatori di utilità prognostica. La riduzione dei livelli di sodio (iponatremia) è molto frequente nei pazienti con sindrome di Guillain-Barré ma il suo impatto nel predire l'outcome clinico non è mai stato studiato. Abbiamo voluto indagare retrospettivamente una corte che include tutti i pazienti adulti diagnosticati per sindrome di Guillain-Barré nel nostro centro negli ultimi dieci anni. La disabilità alla dimissione è stata valutata mediante una specifica scala e i dati clinici e di laboratorio sono stati ricavati dalle cartelle cliniche. Il 60% dei soggetti presentava una forma di grave disabilità alla dimissione. Il rischio di sviluppare una grave disabilità è risultato diminuito del 27% per ciascun incremento unitario della concentrazione di sodio. L'uso di immunoglobuline somministrate per via endovenosa ha aumentato il rischio di sviluppare iponatremia. In conclusione, il nostro studio ha individuato una significativa associazione tra i livelli di base di sodio e grave disabilità alla dimissione nei pazienti con sindrome di Guillain-Barré. L'iponatremia, più frequentemente osservata nei pazienti trattati con immunoglobuline sistemiche, è verosimilmente il risultato di una pseudoiponatremia dovuta ad un effetto di diluizione.

Gagliardi D, Faravelli I, Podestà MA, Brusa R, Mauri E, Saccomanno D, Di Fonzo A, Bonato S, Scarpini E, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

Sodium Levels Predict Disability at Discharge in Guillain-Barré Syndrome: A Retrospective Cohort Study.

Front Neurol. 2021 Sep 7;12:729252. doi: 10.3389/fneur.2021.729252. PMID: 34557155; PMCID: PMC8453067. [IF = 3.552]

Elenco delle Pubblicazioni Scientifiche

Gagliardi D, Ahmadinejad M, Del Bo R, Meneri M, Comi GP, Corti S, Ronchi D. *Homozygous SOD1 Variation L144S Produces a Severe Form of Amyotrophic Lateral Sclerosis in an Iranian Family.*

Neurol Genet. 2021 Dec 16;8(1):e645. doi: 10.1212/NXG.0000000000000645. PMID: 34926808; PMCID: PMC8678909. [IF = 3.485]

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

Characterization of patients with Becker muscular dystrophy by histology, magnetic resonance imaging, function, and strength assessments.

Muscle Nerve. 2021 Dec 16. doi: 10.1002/mus.27475. Epub ahead of print. PMID: 34918368. [IF = 2.496]

van Rheenen W, van der Spek RAA, Bakker MK, van Vugt JJFA, Hop PJ, Zwamborn RAJ, de Klein N, Westra HJ, Bakker OB, Deelen P, Shireby G, Hannon E, Moisse M, Baird D, Restuadi R, Dolzhenko E, Dekker AM, Gawor K, Westeneng HJ, Tazelaar GHP, van Eijk KR, Kooyman M, Byrne RP, Doherty M, Heverin M, Al Khleifat A, Iacoangeli A, Shatunov A, Ticozzi N, Cooper-Knock J, Smith BN, Gromicho M, Chandran S, Pal S, Morrison KE, Shaw PJ, Hardy J, Orrell RW, Sendtner M, Meyer T, Başak N, van der Kooij AJ, Ratti A, Fogh I, Gellera C, Lauria G, Corti S,

Cereda C, Sproviero D, D'Alfonso S, Sorarù G, Siciliano G, Filosto M, Padovani A, Chiò A, Calvo A, Moglia C, Brunetti M, Canosa A, Grassano M, Beghi E, Pupillo E, Logroscino G, Nefussy B, Osmanovic A, Nordin A, Lerner Y, Zabari M, Gotkine M, Baloh RH, Bell S, Vourc'h P, Corcia P, Couratier P, Millicamps S, Meininger V, Salachas F, Mora Pardina JS, Assialioui A, Rojas-García R, Dion PA, Ross JP, Ludolph AC, Weishaupt JH, Brenner D, Freischmidt A, Bensimon G, Brice A, Durr A, Payan CAM, Saker-Delye S, Wood NW, Topp S, Rademakers R, Tittmann L, Lieb W, Franke A, Ripke S, Braun A, Kraft J, Whiteman DC, Olsen CM, Uitterlinden AG, Hofman A, Rietschel M, Cichon S, Nöthen MM, Amouyel P; SLALOM Consortium; PARALS Consortium; SLAGEN Consortium; SLAP Consortium, Traynor BJ, Singleton AB, Mitne Neto M, Cauchi RJ, Ophoff RA, Wiedau-Pazos M, Lomen-Hoerth C, van Deerlin VM, Grosskreutz J, Roediger A, Gaur N, Jörk A, Barthel T, Theele E, Ilse B, Stubendorff B, Witte OW, Steinbach R, Hübner CA, Graff C, Brylev L, Fominykh V, Demeshonok V, Ataulina A, Rogelj B, Koritnik B, Zidar J, Ravnik-Glavač M, Glavač D, Stević Z, Drory V, Povedano M, Blair IP, Kiernan MC, Benyamin B, Henderson RD, Furlong S, Mathers S, McCombe PA, Needham M, Ngo ST, Nicholson GA, Pamphlett R, Rowe DB, Steyn FJ, Williams KL, Mather KA, Sachdev PS, Henders AK, Wallace L, de Carvalho M, Pinto S, Petri S, Weber M, Rouleau GA, Silani V, Curtis CJ, Breen G, Glass JD, Brown RH Jr, Landers JE, Shaw CE, Andersen PM, Groen EJN, van Es MA, Pasterkamp RJ, Fan D, Garton FC, McRae AF, Davey Smith G, Gaunt TR, Eberle MA, Mill J, McLaughlin RL, Hardiman O, Kenna KP, Wray NR, Tsai E, Runz H, Franke L, Al-Chalabi A, Van Damme P, van den Berg LH, Veldink JH.

Common and rare variant association analyses in amyotrophic lateral sclerosis identify 15 risk loci with distinct genetic architectures and neuron-specific biology.

Nat Genet. 2021 Dec;53(12):1636-1648. doi: 10.1038/s41588-021-00973-1. Epub 2021 Dec 6. PMID: 34873335; PMCID: PMC8648564. [IF = 38.333]

Carli F, Fortunato F, Ronchi D, Piciotti R, Sabatini S, Macchi C, Alisi A, Miele L, Soardo G, Comi GP, Valenti L, Ruscica M, Fracanzani AL, Gastaldelli A, Dongiovanni P. *TM6SF2/PNPLA3/MBOAT7 Loss-of-Function Genetic Variants Impact on NAFLD Development and Progression Both in Patients and in In Vitro Models.*

Cell Mol Gastroenterol Hepatol. 2021 Nov 23:S2352-345X(21)00241-1. doi: 10.1016/j.jcmgh.2021.11.007. Epub ahead of print. PMID: 34823063. [IF = 9.225]

Mauri E, Piga D, Pagliarani S, Magri F, Manini A, Sciacco M, Ripolone M, Napoli L, Borellini L, Cinnante C, Cassandrini D, Corti S, Bresolin N, Comi GP, Govoni A.

CACNA1S mutation associated with a case of juvenile-onset congenital myopathy.

J Neurol Sci. 2021 Dec 15;431:120047. doi: 10.1016/j.jns.2021.120047. Epub 2021 Nov 3. PMID: 34763287. [IF = 3.307]

Johnson JO, Chia R, Miller DE, Li R, Kumaran R, Abramzon Y, Alahmady N, Renton AE, Topp SD, Gibbs JR, Cookson MR, Sabir MS, Dalgard CL, Troakes C, Jones AR, Shatunov A, Iacoangeli A, Al Khleifat A, Ticozzi N, Silani V, Gellera C, Blair IP, Dobson-Stone C, Kwok JB, Bonkowski ES, Palvadeau R, Tienari PJ, Morrison KE, Shaw PJ, Al-Chalabi A, Brown RH Jr, Calvo A, Mora G, Al-Saif H, Gotkine M, Leigh F, Chang IJ, Perlman SJ, Glass I, Scott AI, Shaw CE, Basak AN, Landers JE, Chiò A, Crawford TO, Smith BN, Traynor BJ; FALS Sequencing Consortium; American Genome Center; International ALS Genomics Consortium; and ITALSGEN Consortium, Smith BN, Ticozzi N, Fallini C, Gkazi AS, Topp SD, Scotter EL, Kenna KP, Keagle P, Tiloca C, Vance C, Troakes C, Colombrita C, King A, Pensato V, Castellotti B, Baas F, Ten Asbroek ALMA, McKenna-Yasek D, McLaughlin RL, Polak M, Asress S, Esteban-Pérez J, Stevic Z, D'Alfonso S, Mazzini L, Comi GP, Del Bo R, Ceroni M, Gagliardi S, Querin G, Bertolin C, van Rheenen W, Rademakers R, van Blitterswijk M, Lauria G, Duga S, Corti S, Cereda C, Corrado L, Sorarù G, Williams KL, Nicholson GA, Blair IP, Leblond-Manry C, Rouleau GA, Hardiman O, Morrison KE, Veldink JH, van den Berg LH, Al-Chalabi A, Pall H, Shaw PJ, Turner MR, Talbot K, Taroni F,

García-Redondo A, Wu Z, Glass JD, Gellera C, Ratti A, Brown RH Jr, Silani V, Shaw CE, Landers JE, Dalgard CL, Adeleye A, Soltis AR, Alba C, Viollet C, Bacikova D, Hupalo DN, Sukumar G, Pollard HB, Wilkerson MD, Martinez EM, Abramzon Y, Ahmed S, Arepalli S, Baloh RH, Bowser R, Brady CB, Brice A, Broach J, Campbell RH, Camu W, Chia R, Cooper-Knock J, Ding J, Drepper C, Drory VE, Dunckley TL, Eicher JD, England BK, Faghri F, Feldman E, Floeter MK, Fratta P, Geiger JT, Gerhard G, Gibbs JR, Gibson SB, Glass JD, Hardy J, Harms MB, Heiman-Patterson TD, Hernandez DG, Jansson L, Kirby J, Kowall NW, Laaksovirta H, Landeck N, Landi F, Le Ber I, Lumbroso S, MacGowan DJL, Maragakis NJ, Mora G, Mouzat K, Murphy NA, Myllykangas L, Nalls MA, Orrell RW, Ostrow LW, Pamphlett R, Pickering-Brown S, Pioro EP, Pletnikova O, Pliner HA, Pulst SM, Ravits JM, Renton AE, Rivera A, Robberecht W, Rogaeva E, Rollinson S, Rothstein JD, Scholz SW, Sendtner M, Shaw PJ, Sidle KC, Simmons Z, Singleton AB, Smith N, Stone DJ, Tienari PJ, Troncoso JC, Valori M, Van Damme P, Van Deerlin VM, Van Den Bosch L, Zinman L, Landers JE, Chiò A, Traynor BJ, Angelocola SM, Ausiello FP, Barberis M, Bartolomei I, Battistini S, Bersano E, Bisogni G, Borghero G, Brunetti M, Cabona C, Calvo A, Canale F, Canosa A, Cantisani TA, Capasso M, Caponnetto C, Cardinali P, Carrera P, Casale F, Chiò A, Colletti T, Conforti FL, Conte A, Conti E, Corbo M, Cuccu S, Dalla Bella E, D'Errico E, DeMarco G, Dubbioso R, Ferrarese C, Ferraro PM, Filippi M, Fini N, Floris G, Fuda G, Gallone S, Gianferrari G, Giannini F, Grassano M, Greco L, Iazzolino B, Introna A, La Bella V, Lattante S, Lauria G, Liguori R, Logroscino G, Logullo FO, Lunetta C, Mandich P, Mandrioli J, Manera U, Manganelli F, Marangi G, Marinou K, Marrosu MG, Martinelli I, Messina S, Moglia C, Mora G, Mosca L, Murru MR, Origone P, Passaniti C, Petrelli C, Petrucci A, Pozzi S, Pugliatti M, Quattrini A, Ricci C, Riolo G, Riva N, Russo M, Sabatelli M, Salamone P, Salivetto M, Salvi F, Santarelli M, Sbaiz L, Sideri R, Simone I, Simonini C, Spataro R, Tanel R, Tedeschi G, Ticca A, Torriello A, Tranquilli S, Tremolizzo L, Trojsi F, Vasta R, Vacchiano V, Vita G, Volanti P, Zollino M, Zucchi E.

Association of Variants in the SPTLC1 Gene With Juvenile Amyotrophic Lateral Sclerosis.

JAMA Neurol. 2021 Oct 1;78(10):1236-1248. doi: 10.1001/jamaneurol.2021.2598. PMID: 34459874; PMCID: PMC8406220. [IF = 18.302]

Locci S, Cardani R, Brunori P, Lucchiari S, Comi GP, Federico A, De Stefano N, Meola G, Mignarri A. *Co-occurrence of DMPK expansion and CLCN1 mutation in a patient with myotonia.*

Neurol Sci. 2021 Dec;42(12):5365-5368. doi: 10.1007/s10072-021-05538-y. Epub 2021 Aug 13. PMID: 34386887. [IF = 3.307]

Rigamonti A, Mantero V, Peverelli L, Pagliarani S, Lucchiari S, Comi G, Gibertini S, Salmaggi A. *p.Asn1180Ile mutation of SCN4A gene in an Italian family with myopathy and myotonic syndrome.*

Neurol Sci. 2021 Dec;42(12):5359-5363. doi: 10.1007/s10072-021-05537-z. Epub 2021 Aug 11. PMID: 34378097. [IF = 3.307]

Lanfranconi S, Piergallini L, Ronchi D, Valcamonica G, Conte G, Marazzi E, Manenti G, Bertani GA, Locatelli M, Triulzi F, Bresolin N, Scola E, Comi GP.

Clinical, neuroradiological and genetic findings in a cohort of patients with multiple Cerebral Cavernous Malformations.

Metab Brain Dis. 2021 Oct;36(7):1871-1878. doi: 10.1007/s11011-021-00809-1. Epub 2021 Aug 6. PMID: 34357553. [IF = 2.638]

Darras BT, Masson R, Mazurkiewicz-Bėldzińska M, Rose K, Xiong H, Zanoteli E, Baranello G, Bruno C, Vlodavets D, Wang Y, El-Khairi M, Gerber M, Gorni K, Khwaja O, Kletzl H, Scalco RS, Fontoura P, Servais L; FIREFISH Working Group.

Risdiplam-Treated Infants with Type 1 Spinal Muscular Atrophy versus Historical Controls. **N Engl J Med.** 2021 Jul 29;385(5):427-435. doi: 10.1056/NEJMoa2102047. PMID: 34320287. [IF = 91.245]

Gagliardi D, Costamagna G, Abati E, Mauri E, Brusa R, Scudeller L, Andreoli L, Citterio G, Piccin E, Magri F, Meneri M, Velardo D, Sciacco M, Bresolin N, Corti S, Comi GP.

Impact of COVID-19 on the quality of life of patients with neuromuscular disorders in the Lombardy area, Italy.

Muscle Nerve. 2021 Oct;64(4):474-482. doi: 10.1002/mus.27378. Epub 2021 Aug 3. PMID: 34296433; PMCID: PMC8441795. [IF = 2.496]

Mauri E, Piga D, Govoni A, Brusa R, Pagliarani S, Ripolone M, Dilella R, Cinnante C, Sciacco M, Cassandrini D, Nigro V, Bresolin N, Corti S, Comi GP, Magri F.

Early Findings in Neonatal Cases of RYR1-Related Congenital Myopathies.

Front Neurol. 2021 Jun 28;12:664618. doi: 10.3389/fneur.2021.664618. PMID: 34262519; PMCID: PMC8273285. [IF = 3.552]

Coratti G, Pane M, Brogna C, Ricotti V, Messina S, D'Amico A, Bruno C, Vita G, Berardinelli A, Mazzone E, Magri F, Ricci F, Mongini T, Battini R, Bello L, Pegoraro E, Baranello G, Previtali SC, Politano L, Comi GP, Sansone VA, Donati A, Hogrel JY, Straub V, De Lucia S, Niks E, Servais L, De Groot I, Chesshyre M, Bertini E, Goemans N, Muntoni F, Mercuri E; on behalf on the International DMD Group and the iMDEx Consortium.

North Star Ambulatory Assessment changes in ambulant Duchenne boys amenable to skip exons 44, 45, 51, and 53: A 3 year follow up.

PLoS One. 2021 Jun 25;16(6):e0253882. doi: 10.1371/journal.pone.0253882. PMID: 34170974; PMCID: PMC8232423. [IF = 3.24]

Johari M, Sarparanta J, Vihola A, Jonson PH, Savarese M, Jokela M, Torella A, Piluso G, Said E, Vella N, Cauchi M, Magot A, Magri F, Mauri E, Kornblum C, Reimann J, Stojkovic T, Romero NB, Luque H, Huovinen S, Lahermo P, Donner K, Comi GP, Nigro V, Hackman P, Udd B.

Missense mutations in small muscle protein X-linked (SMPX) cause distal myopathy with protein inclusions.

Acta Neuropathol. 2021 Aug;142(2):375-393. doi: 10.1007/s00401-021-02319-x. Epub 2021 May 11. PMID: 33974137; PMCID: PMC8270885. [IF = 17.088]

Abati E, Magri S, Meneri M, Manenti G, Velardo D, Balistreri F, Pisciotto C, Saveri P, Bresolin N, Comi GP, Ronchi D, Pareyson D, Taroni F, Corti S.

Charcot-Marie-Tooth disease type 2F associated with biallelic HSPB1 mutations.

Ann Clin Transl Neurol. 2021 May;8(5):1158-1164. doi: 10.1002/acn3.51364. Epub 2021 May 4. PMID: 33943041; PMCID: PMC8108422. [IF = 3.93]

Costamagna G, Comi GP, Corti S.

Advancing Drug Discovery for Neurological Disorders Using iPSC-Derived Neural Organoids. **Int J Mol Sci.** 2021 Mar 6;22(5):2659. doi: 10.3390/ijms22052659. PMID: 33800815; PMCID: PMC7961877. [IF = 5.923]

Brogna C, Coratti G, Rossi R, Neri M, Messina S, Amico A, Bruno C, Lucibello S, Vita G, Berardinelli A, Magri F, Ricci F, Pedemonte M, Mongini T, Battini R, Bello L, Pegoraro E, Baranello G, Politano L, Comi GP, Sansone VA, Albamonte E, Donati A, Bertini E, Goemans N, Previtali S, Bovis F, Pane M, Ferlini A, Mercuri E; on behalf on the International DMD group.

The nonsense mutation stop+4 model correlates with motor changes in Duchenne muscular dystrophy.

Neuromuscul Disord. 2021 Jun;31(6):479-488. doi: 10.1016/j.nmd.2021.02.015. Epub 2021 Feb 21. PMID: 33773883. [IF = 4.296]

Baranello G, Darras BT, Day JW, Deconinck N, Klein A, Masson R, Mercuri E, Rose K, El-Khairi M, Gerber M, Gorni K, Khwaja O, Kletzl H, Scalco RS, Seabrook T, Fontoura P, Servais L; FIREFISH Working Group.

Risdiplam in Type 1 Spinal Muscular Atrophy.

N Engl J Med. 2021 Mar 11;384(10):915-923. doi: 10.1056/NEJMoa2009965. Epub 2021 Feb 24. PMID: 33626251. [IF = 91.245]

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 Aug;16(5):1247-1252. doi: 10.1007/s11739-021-02634-x. Epub 2021 Feb 10. PMID: 33565035; PMCID: PMC7872881. [IF = 3.397]

Monfrini E, Cogiamanian F, Salani S, Straniero L, Fagiolari G, Garbellini M, Carsana E, Borellini L, Biella F, Moggio M, Bresolin N, Corti S, Duga S, Comi GP, Aureli M, Di Fonzo A.

A Novel Homozygous VPS11 Variant May Cause Generalized Dystonia.

Ann Neurol. 2021 Apr;89(4):834-839. doi: 10.1002/ana.26021. Epub 2021 Feb 2. PMID: 33452836; PMCID: PMC8048445. [IF = 10.422]

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. 2021 Feb 3;109(3):448-460.e4. doi: 10.1016/j.neuron.2020.11.005. Epub 2020 Nov 26. PMID: 33242422; PMCID: PMC7864894. [IF = 17.173]

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. 2021 May;268(5):1580-1591. doi: 10.1007/s00415-020-10149-2. Epub 2020 Aug 17. PMID: 32804279; PMCID: PMC7429942. [IF = 4.849]

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 Jun;99(6):829-835. doi: 10.1111/cge.13944. Epub 2021 Feb 25. PMID: 33604894. [IF = 4.104]

Gagliardi D, Faravelli I, Meneri M, Saccomanno D, Govoni A, Magri F, Ricci G, Siciliano G, Pietro Comi G, Corti S.

Diagnostic and prognostic value of CSF neurofilaments in a cohort of patients with motor neuron disease: A cross-sectional study.

J Cell Mol Med. 2021 Apr;25(8):3765-3771. doi: 10.1111/jcmm.16240. Epub 2021 Feb 20. PMID: 33609080; PMCID: PMC8051694. [IF = 5.310]

Gagliardi D, Faravelli I, Podestà MA, Brusa R, Mauri E, Saccomanno D, Di Fonzo A, Bonato S, Scarpini E, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

Sodium Levels Predict Disability at Discharge in Guillain-Barré Syndrome: A Retrospective Cohort Study.

Front Neurol. 2021 Sep 7;12:729252. doi: 10.3389/fneur.2021.729252. PMID: 34557155; PMCID: PMC8453067. [IF = 3.552]

Bozzi G, Meneri M, Peri AM, Taramasso L, Muscatello A, Bandera A, Comi GP, Gori A.

Starting HIV therapy in patients with mitochondrial disease.

AIDS. 2021 Oct 1;35(12):2063-2065. doi: 10.1097/QAD.0000000000002996. PMID: 34471077. [IF = 4.511]

Shieh PB, Elfring G, Trifillis P, Santos C, Peltz SW, Parsons JA, Apkon S, Darras BT, Campbell C, McDonald CM; Members of the Ataluren Phase IIb Study Group†; Members of the Ataluren Phase IIb Study Clinical Evaluator Training Group‡; Members of the ACT DMD Study Group¶; Members of the ACT DMD Clinical Evaluator Training Group§.

Meta-analyses of deflazacort versus prednisone/prednisolone in patients with nonsense mutation Duchenne muscular dystrophy.

J Comp Eff Res. 2021 Dec;10(18):1337-1347. doi: 10.2217/ce-2021-0018. Epub 2021 Oct 25. PMID: 34693725. [IF = 2.268]

Cugno M, Macor P, Giordano M, Manfredi M, Griffini S, Grovetti E, De Maso L, Mellone S, Valenti L, Prati D, Bonato S, Comi G, Artoni A, Meroni PL, Peyvandi F.

Consumption of complement in a 26-year-old woman with severe thrombotic thrombocytopenia after ChAdOx1 nCov-19 vaccination.

J Autoimmun. 2021 Nov;124:102728. doi: 10.1016/j.jaut.2021.102728. Epub 2021 Sep 27. PMID: 34592707. [IF = 7.094]

Mercuri E, Muntoni F, Baranello G, Masson R, Boespflug-Tanguy O, Bruno C, Corti S, Daron A, Deconinck N, Servais L, Straub V, Ouyang H, Chand D, Tauscher-Wisniewski S, Mendonca N, Lavrov A; STRIVE-EU study group.

Onasemnogene abeparvovec gene therapy for symptomatic infantile-onset spinal muscular atrophy type 1 (STRIVE-EU): an open-label, single-arm, multicentre, phase 3 trial.

Lancet Neurol. 2021 Oct;20(10):832-841. doi: 10.1016/S1474-4422(21)00251-9. PMID: 34536405. [IF = 44.182]

Messina S, Sframeli M, Maggi L, D'Amico A, Bruno C, Comi G, Mercuri E.

Spinal muscular atrophy: state of the art and new therapeutic strategies.

Neurol Sci. 2021 Apr 19. doi: 10.1007/s10072-021-05258-3. Epub ahead of print. PMID: 33871750. [IF = 3.307]

Abstract presentati a congressi scientifici nazionali e internazionali

L. Maggi, L. Bello, S. Bonanno, A. Govoni, C. Caponnetto, S.G. Grisanti, L. Passamano, M. Grandis, G. Nicocia, F. Trojsi, F. Cerri, A. Gardani, B. Risi, G. Giulio, M. Ferraro, V. Bozzoni, L. Caumo, R. Piras, R. Tanel, E. Saccani, M. Meneri, V. Vacchiano, G. Ricci, G. Sorarù, E. D'Errico, M.A. Maioli, I. Tramacere, S. Bortolani, G. Pavesi, R. Zanin, M. Silvestrini, L. Politano, A. Schenone, S. C. Previtali, A. Berardinelli, M. Turri, L. Verriello, M. Coccia, R. Mantegazza, R. Liguori, M. Filosto, G. Marrosu, G. Siciliano, I. L. Simone, T. Mongini, G.P. Comi, E. Pegoraro
Long-term nusinersen safety and effects on motor function in adult spinal muscular atrophy type 2 and 3

XXI Congresso Nazionale AIM (Associazione Italiana Miologia), Milano 1-4 dicembre 2021

A. Govoni, A. Nuredini, M. Taiana, M. Nizzardo, A. D'Amico, E. Bertini, V. Sansone, E. Albamonte, S. Messina, F. Mari, E. Cesaroni, L. Porfiri, D. Tiziano, G.L. Vita, M. Sframeli, E. Merico, E. Schirinzi, G. Siciliano, J. A. F. Ramos, I. Ostrowska, M. Piontek, G.P. Comi, S. P. Corti
Phenotypic spectrum of IGHMBP2 gene mutations and natural history study in a cohort of European patients

XXI Congresso Nazionale AIM (Associazione Italiana Miologia), Milano 1-4 dicembre 2021

D. Sabbatini, S. Vianello, A. Fusto, B. Merlo, A. Berardinelli, S. Parravicini, C. Bruno, C. Panicucci, G. P. Comi, F. Magri, A. D'Amico, M. Catteruccia, L. Travagliani, Grazia D'Angelo, V. Sansone, A. Di Bari, T. Mongini, C. Brusa, L. Maggi, E. Canioni, A. Gallone, M. Pane, D. Leone, L. Politano, E. Picillo, V. Nigro, S. Messina, G. Vita, G. Sorarù, L. Bello, E. Pegoraro

Preliminary Genome-Wide Association Study for identification and characterization of genetic modifiers of Duchenne muscular dystrophy

XXI Congresso Nazionale AIM (Associazione Italiana Miologia), Milano 1-4 dicembre 2021

F. Poggetti, F. Magri, M. Ripolone, M. Sciacco, M. Moggio, G.P. Comi, S. Zanotti

Immunofluorescence signal intensity measurements as a semi-quantitative tool to assess sarcoglycan complex expression in muscle biopsy

XXI Congresso Nazionale AIM (Associazione Italiana Miologia), Milano 1-4 dicembre 2021

D. Ronchi, S. Lucchiari, F. Magri, M. Garbellini, S. Salani, S. Zanotti, P. Ciscato, M. Sciacco, M. Moggio, S. Corti, N. Bresolin, GP Comi

Antisense oligonucleotide (ASO)-based in vitro modulation of GAA expression in Late-Onset Pompe Disease

XXI Congresso Nazionale AIM (Associazione Italiana Miologia), Milano 1-4 dicembre 2021

Manini, D. Velardo, P. Ciscato, C. Cinnante, F. Magri, M. Moggio, GP Comi, S. Corti, D. Ronchi

A case of severe sensorimotor polyneuropathy and distal myopathy associated with vocal cord and pharyngeal weakness

XXI Congresso Nazionale AIM (Associazione Italiana Miologia), Milano 1-4 dicembre 2021

S. Antognozzi, F. Magri, P. Ciscato, L. Napoli, D. Velardo, G. Scuvera, A. Giacobbe, D. Milani, M. Sciacco, M. Moggio, S. Corti, N. Bresolin, GP Comi, D. Ronchi

Cognitive impairment and slowly progressive muscular weakness in a 6-year-old boy

XXI Congresso Nazionale AIM (Associazione Italiana Miologia), Milano 1-4 dicembre 2021

D. Velardo, M. Ripolone, S. Zanotti, F. Magri, C. M. Cinnante, S. Montrasio, S. Cazzaniga, E. H. Niks, M. Sciacco, P. U. Bettica, G. P. Comi

Disease characterization of ambulant patients with Becker muscular dystrophy: histopathological, functional and imaging data from Givinostat trial cohort

XXI Congresso Nazionale AIM (Associazione Italiana Miologia), Milano 1-4 dicembre 2021

F. Magri, S. Salani, F. Fortunato, S. Zanotti, P. Ciscato, S. Gerevini, L. Maggi, M. Sciacco, M. Moggio, S. Corti, N. Bresolin, D. Ronchi, GP Comi

Antisense morpholino-based in vitro correction of a novel pseudoexon-generating mutation in the SGCB gene

XXI Congresso Nazionale AIM (Associazione Italiana Miologia), Milano 1-4 dicembre 2021

V. Melzi, M. Rizzuti, D. Gagliardi, M. Meneri, P. Masrori, F. Biella, P. Van Damme, GP Comi, M. Nizzardo, S. Corti

Insights for the development of a miRNA-based therapeutic strategy in ALS exploiting iPSC-derived motor neurons and exosomes.

XXI Congresso Nazionale AIM (Associazione Italiana Miologia), Milano 1-4 dicembre 2021

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

6MWT as measure of fatigability in sma type 3 patients treated with nusinersen

XXI Congresso Nazionale AIM (Associazione Italiana Miologia), Milano 1-4 dicembre 2021

M. Rizzuti, M. Bersani, E. Pagliari, M. Garbellini, D. Saccomanno, N. Bresolin, G. P. Comi, S. Corti, M. Nizzardo

Cell-penetrating peptides-conjugated Morpholino: a novel therapeutic approach for the treatment of Spinal Muscular Atrophy symptomatic cases

XXI Congresso Nazionale AIM (Associazione Italiana Miologia), Milano 1-4 dicembre 2021

Picciolli, E. Capecci, G. Francescato, A. Mayer, A. Cappelleri, R. Raschetti, L. Mauri, F. Furlan, F. Menni, M. Scali, F. Bedeschi, G. Comi, F. Ceroni, D. Libreri, G. Mangili, F. Mosca

Cardiomiopatia ipertrofica biventricolare congenita: quando sospettare una malattia del metabolismo energetico mitocondriale.

XXVII congresso Nazionale Società Italiana Neonatologia, Roma 6-9 ottobre 2021

S. Lucchiari, S. Pagliarani, G. Comi

Aspetti genetici e patomolecolari della DM1 e DM2

Giornata internazionale delle Distrofie Miotoniche, Casa di Cura Privata del Policlinico, Milano 12 Settembre 2021

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

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
Dott. Alessia Anastasia

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
Dott. Manuela Garbellini

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 da un lato di avere a disposizione validi modelli cellulari paziente specifici e dall'altro una valida 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 in corso studi di validazione di 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 2021.

Il trattamento con morfolino coniugato a peptidi con elevata penetrabilità cellulare causa un miglioramento del fenotipo nel modello preclinico di SMA in fase sintomatica (Bersani *et al.*, 2021).

L'atrofia muscolare spinale (SMA) è una malattia del motoneurone ed è la principale causa genetica di mortalità infantile. Le recenti terapie approvate per la SMA hanno trasformato questa malattia da una forma mortale ad una non letale. Nonostante questi farmaci abbiano un ampio spettro di risposta clinica risultano essere efficaci solo se somministrati nelle prime fasi della malattia. Pertanto, sono urgentemente necessari trattamenti sicuri, somministrabili anche in soggetti sintomatici e non invasivi con un elevato impatto clinico su diversi fenotipi. In questo studio abbiamo coniugato gli oligonucleotidi antisenso con chimica Morpholino (MO), capaci di aumentare i livelli della di espressione della proteina SMN, ai peptidi con elevata penetrabilità cellulare CPP per migliorarne la biodistribuzione cellulare. Il MO coniugato ai peptidi R6 e (RXRRBR) 2XB somministrato per via sistemica è in grado di attraversare la barriera emato-encefalica e di aumentare notevolmente i livelli della proteina SMN, causando un notevole miglioramento della sopravvivenza, della funzionalità neuromuscolare e degli aspetti neuropatologici nel modello murino di SMA anche in fase sintomatica. Il nostro studio dimostra che i coniugati MO-CPP possono espandere significativamente la finestra terapeutica attraverso una somministrazione sistemica minimamente invasiva, aprendo la strada alle applicazioni cliniche di questa strategia.

Bersani M, Rizzuti M, Pagliari E, Garbellini M, Saccomanno D, Moulton HM, Bresolin N, Comi GP, Corti S, Nizzardo M.

Cell-penetrating peptide conjugated Morpholino rescues SMA in a symptomatic preclinical model. Mol Ther. 2021 Nov 19:S1525-0016(21)00583-9.

La sumoilazione regola l'assemblaggio e l'attività del complesso SMN (Riboldi *et al.*, 2021).

SMN è una proteina espressa ubiquitariamente ed è essenziale per la sopravvivenza. La carenza di SMN causa l'atrofia muscolare spinale (SMA), che ad oggi è la principale causa genetica di mortalità infantile. La proteina SMN interagisce con tante altre proteine per formare un complesso che interviene nell'assemblaggio delle ribonucleoproteine. Ad oggi è stato descritto che la proteina SMN è modificata da SUMO (Small Ubiquitin-like Modifier), ma se la sumoilazione sia necessaria per le funzioni di SMN rilevanti per la patogenesi SMA non è noto. In questo studio abbiamo dimostrato che l'inattivazione di un motivo di interazione con la proteina SUMO altera la distribuzione sub-cellulare di SMN, l'integrità del suo complesso ed il suo intervento nella

biogenesi delle piccole ribonucleoproteine nucleari. L'espressione di un mutante SIM-inattivato di SMN in un modello murino di SMA estende leggermente il tasso di sopravvivenza con correzione limitata e transitoria dei deficit motori. Sorprendentemente, sebbene SMN inattivato attenui la perdita dei motoneuroni e migliori le sinapsi a livello delle giunzioni neuromuscolari, non riesce a prevenire la perdita di sinapsi sensitivo-motorie. Questi risultati suggeriscono che la sumoilazione è importante per il corretto assemblaggio e la funzione del complesso SMN e che la perdita di questa modifica post-traslazionale compromette la capacità di SMN di correggere i deficit selettivi nel circuito sensitivo motorio nel modello murino di SMA.

Riboldi GM, Faravelli I, Kuwajima T, Delestrée N, Dermentzaki G, De Planell- Sager M, Rinchetti P, Hao LT, Beattie CC, Corti S, Przedborski S, Mentis GZ, Lotti F.

Sumoylation regulates the assembly and activity of the SMN complex.

Nat Commun. 2021 Aug 19;12(1):5040.

Alterazioni a livello dell'hub di segnalazione neurotrofica B-Raf contribuiscono alla degenerazione del motoneurone nell'atrofia muscolare spinale (Hensel *et al.*, 2021).

L'atrofia muscolare spinale (SMA) è una malattia del motoneurone causata da delezioni del gene *SMN1* con conseguente riduzione dei livelli di espressione della proteina SMN. Il ripristino di livelli normali di SMN è alla base di una serie di farmaci recentemente approvati che hanno portato ad effetti notevoli ma limitati. Sono quindi necessari approcci complementari indipendenti da SMN. In precedenza, sono stati identificati come possibili bersagli terapeutici una serie di pathway di segnalazione alterati che regolano la degenerazione del motoneurone. Tuttavia, i pathway di segnalazione formano dei network e il loro ruolo nella patogenesi della SMA è ancora sconosciuto. In questo lavoro, abbiamo usato modelli murini di SMA in fase presintomatica per studiare uno specifico network di segnalazione alterato nella SMA. Il network della SMA è strutturato in due cluster con AKT e 14-3-3 ζ/δ nei loro centri. Entrambi i cluster sono collegati da B-Raf come principale hub di segnalazione. L'interazione diretta di B-Raf con 14-3-3 ζ/δ è importante per un'attivazione neurotrofica efficiente del pathway MEK/ERK ed è cruciale per la sopravvivenza del motoneurone. Ulteriori analisi nel modello murino di SMA hanno rivelato che entrambe le proteine sono down-regolate nei motoneuroni e nel midollo spinale, con B-Raf ridotto nelle fasi presintomatiche. I fibroblasti primari e i motoneuroni derivati da iPSC di pazienti SMA hanno mostrato entrambi lo stesso pattern di down-regolazione. Questo meccanismo è conservato tra le specie, poiché il modello SMA di *Caenorhabditis elegans* ha mostrato una minore espressione di *lin-45*, l'omologo di B-Raf. Di conseguenza, la sopravvivenza dei motoneuroni risulta significativamente incrementata aumentando i livelli di espressione di *lin-45* in un modello SMA di *C. elegans* con un conseguente miglioramento anche delle funzionalità motorie. Questo miglioramento del fenotipo è stato evidente anche dopo la comparsa della degenerazione del motoneurone e risulta mediato dalla via MEK/ERK.

Hensel N, Cieri F, Santonicola P, Tapken I, Schaning T, Taiana M, Pagliari E, Joseph A, Fischer S, Heidrich N, Brinkmann H, Kubinski S, Bergmann AK, Richter MF, Jung K, Corti S, Schiavi ED, Claus P.

Impairment of the neurotrophic signaling hub B-Raf contributes to motoneuron degeneration in spinal muscular atrophy.

Proc Natl Acad Sci U S A. 2021 May 4;118(18):e2007785118.

Progressi nell'utilizzo degli organoidi neurali derivati da iPSC per lo screening di farmaci per disturbi neurologici (Costamagna *et al.*, 2021).

Nell'ultimo decennio, diversi gruppi di ricerca in ambito accademico hanno sviluppato protocolli basati sull'utilizzo di cellule staminali pluripotenti (iPSC) per generare organoidi tridimensionali, multicellulari e neurali. Il loro utilizzo per modellare la biologia del cervello, lo sviluppo neurale iniziale e le malattie umane ha fornito nuove informazioni sulla patofisiologia dei disordini neuropsichiatrici e neurologici, compreso la microcefalia, l'autismo, la malattia di Parkinson e la

malattia di Alzheimer. Tuttavia, l'uso della tecnologia basata sugli organoidi per lo screening su larga scala di terapie in ambito industriale è stato ostacolato da problemi come la riproducibilità, la e la traslabilità del dato a livello della malattia umana. Le possibili soluzioni tecniche per estendere il loro uso includono l'utilizzo del meccanismo CRISPR per creare modelli isogenici, il sequenziamento di RNA a singola cellula per caratterizzare il modello a livello cellulare, e il machine learning per analizzare i set di dati complessi. Inoltre, analisi di imaging ad alta risoluzione, gestione automatizzata dei liquidi di cultura e analisi standardizzate rappresentano altri strumenti preziosi per raggiungere questo obiettivo. Anche se diverse questioni aperte ostacolano ancora la piena attuazione della tecnologia organoide al di fuori del mondo accademico, rapidi progressi in questo campo aiuteranno a sollecitare il loro utilizzo per lo screening su larga scala dei farmaci per diversi disturbi neurologici.

Costamagna G, Comi GP, Corti S.

Advancing Drug Discovery for Neurological Disorders Using iPSC-Derived Neural Organoids.

Int J Mol Sci. 2021 Mar 6;22(5):2659.

Utilizzo delle cellule muscolari derivate da hiPSC come modelli per l'identificazione di farmaci per le distrofie muscolari (Abati *et al.*, 2021).

Le distrofie muscolari sono un gruppo eterogeneo di malattie ereditarie caratterizzate dalla progressiva degenerazione e debolezza dei muscoli scheletrici, che portano alla disabilità e, spesso, alla morte prematura. Ad oggi non sono disponibili terapie efficaci per arrestare o invertire il processo patogenetico e sono urgentemente necessari trattamenti risolutivi. Da questo punto di vista, è particolarmente importante stabilire modelli affidabili *in vitro* del muscolo umano che consentano la ricapitolazione delle caratteristiche della malattia e lo screening di terapie genetiche e farmacologiche. In questo studio abbiamo esaminato e discusso i progressi nello sviluppo di modelli muscolari *in vitro* ottenuti da cellule staminali pluripotenti indotte umane (hiPSC), che sembrano essere in grado di riprodurre la mancanza di proteine della miofibrilla così come altre caratteristiche patologiche specifiche, come l'infiammazione, la fibrosi e la ridotta capacità rigenerativa muscolare. Inoltre, queste piattaforme sono state utilizzate per valutare strategie di correzione genica come il silenziamento genico, il trasferimento genico e l'editing del genoma con metodica CRISPR, oltre che di nuove piccole molecole utilizzate per migliorare la degenerazione muscolare. Inoltre, abbiamo riassunto le recenti sfide legate ai test farmacologici *in vitro*, fornendo una visione critica dei potenziali sviluppi terapeutici per favorire la futura traslazione clinica di questi studi nell'ambito della distrofia muscolare.

Abati E, Sclarandi E, Comi GP, Parente V, Corti S.

Perspectives on hiPSC-Derived Muscle Cells as Drug Discovery Models for Muscular Dystrophies. *Int J Mol Sci.* 2021 Sep 6;22(17):9630.

Mutazione nel gene *CACNA1S* associata ad un caso di miopatia congenita ad esordio giovanile (Mauri *et al.*, 2021).

In questo studio, abbiamo descritto il caso di una famiglia italiana, i cui membri affetti hanno mostrato diversi gradi di coinvolgimento muscolare e caratteristiche istopatologiche compatibili con le miopatie congenite (CM), in presenza di una rara mutazione in eterozigosi del gene *CACNA1S*. Le miopatie congenite sono un gruppo eterogeneo di disturbi genetici muscolari che vanno da manifestazioni neonatali gravi e letali a forme più lievi con insorgenza in età adulta, classificate secondo specifiche caratteristiche istologiche e ultrastrutturali della biopsia muscolare. Le principali caratteristiche cliniche includono l'ipotonìa e la debolezza dei muscoli prossimali e facciali, spesso associati a insufficienza respiratoria e coinvolgimento cardiaco. Negli ultimi decenni, molti geni causativi sono stati associati a questo gruppo di malattie. I geni appartenenti alla famiglia *CACNA1* codificano per la subunità alfa tessuto-specifiche del canale calcio voltaggio dipendente, le cui alterazioni sono state associate ad atassia, emicrania, cecità e sordità. Il gene *CACNA1S* codifica per

la proteina Cav1.1 espressa a livello del muscolo scheletrico. Mutazioni nel gene *CACNA1S* sono state precedentemente associate ad ipertermia maligna, paralisi ipokaliemica e, solo più recentemente, a miopatie congenite.

Mauri E, Piga D, Pagliarani S, Magri F, Manini A, Sciacco M, Ripolone M, Napoli L, Borellini L, Cinnante C, Cassandrini D, Corti S, Bresolin N, Comi GP, Govoni A.

CACNA1S mutation associated with a case of juvenile-onset congenital myopathy.

J Neurol Sci. 2021 Dec 15;431:120047.

Malattia di Charcot- Marie-Tooth di tipo 2F associata a mutazioni bialleliche del gene *HSPB1* (Abati *et al.*, 2021).

Questo studio è finalizzato ad ampliare le conoscenze relative allo spettro genetico delle malattie correlate al gene *HSPB1*. Le mutazioni in *HSPB1* sono state associate come causative della malattia Charcot-Marie-Tooth (CMT) assonale di tipo 2F e della neuropatia motoria ereditaria distale (dHMN). Metodi: Due pazienti con neuropatia sensitivo motoria assonale su cui sono stati eseguiti esami clinici dettagliati, studi neurofisiologici e sequenziamento con la metodica next-generation con successiva prioritizzazione bioinformatica delle varianti genetiche e analisi in silico della mutazione causale probabile. Risultati: Le mutazioni p.S135F e p.R136L nel gene *HSPB1* sono state identificate in omozigosi nei due individui affetti. Entrambe le mutazioni influenzano il dominio alfa-cristallino altamente conservato e sono state precedentemente descritte come causative della forma grave di CMT2F/dHMN, mostrando un modello di ereditarietà strettamente dominante. In questo studio abbiamo quindi descritto per la prima volta due casi di mutazioni bialleliche p.S135F e p.R136L nel gene *HSPB1* in due diverse famiglie.

Abati E, Magri S, Meneri M, Manenti G, Velardo D, Balistreri F, Pisciotta C, Saveri P, Bresolin N, Comi GP, Ronchi D, Pareyson D, Taroni F, Corti S.

Charcot- Marie-Tooth disease type 2F associated with biallelic HSPB1 mutations.

Ann Clin Transl Neurol. 2021 May;8(5):1158-1164.

La disregolazione di microRNA muscolo-specifici come caratteristica patogenetica comune associata all'atrofia muscolare in SLA, SMA e SBMA: prove da modelli animali e pazienti (Malacarne *et al.*, 2021).

Le malattie del motoneurone (MND) sono disturbi neurodegenerativi caratterizzati da una perdita del motoneurone superiore e/o inferiore. Le MND includono la sclerosi laterale amiotrofica (SLA), l'atrofia muscolare spinale (SMA) e l'atrofia muscolare spinale bulbare (SBMA). Nonostante la variabilità nell'insorgenza, nella progressione e nella genetica, esse condividono un comune coinvolgimento del muscolo scheletrico, suggerendo che questo potrebbe essere un sito primario per la patogenesi delle MND. A causa del ruolo chiave dei microRNA muscolo-specifici (myomiR) nello sviluppo del muscolo scheletrico, attraverso la real-time PCR abbiamo studiato l'espressione di miR-206, miR-133a, miR-133b e miR-1, e i loro geni bersaglio, nel muscolo di topi SLA SOD1 G93A, SMA Δ7 e SBMA KI durante la progressione della malattia. Inoltre, abbiamo analizzato la loro espressione nel siero di pazienti SLA, SMA e SBMA mutati per SOD1 per dimostrare il ruolo di myomiR come biomarcatori non invasivi. I nostri dati hanno mostrato una de-regolazione dei myomiR e dei loro target nei modelli animali di SLA, SMA e SBMA, rivelando una comune caratteristica patogenetica associata alla compromissione muscolare. Una simile evidenza è stata osservata nel siero dei pazienti. In particolare, una up-regolazione di miR-206 è stata identificata sia nel muscolo dei modelli animali sia nel siero dei pazienti. I nostri risultati complessivi evidenziano il ruolo dei myomiR come biomarcatori promettenti in SLA, SMA e SBMA. Ulteriori studi sono necessari per esplorare il potenziale dei myomiR come target terapeutici per il trattamento delle MND.

Malacarne C, Galbiati M, Giagnorio E, Cavalcante P, Salerno F, Andreetta F, Cagnoli C, Taiana M, Nizzardo M, Corti S, Pensato V, Venerando A, Gellera C, Fenu S, Pareyson D, Masson R, Maggi L,

DallaBella E, Lauria G, Mantegazza R, Bernasconi P, Poletti A, Bonanno S, Marcuzzo S. *Dysregulation of Muscle-Specific MicroRNAs as Common Pathogenic Feature Associated with Muscle Atrophy in ALS, SMA and SBMA: Evidence from Animal Models and Human Patients. Int J Mol Sci.* 2021 May 26;22(11):5673.

Valore diagnostico e prognostico dei neurofilamenti del liquido cerebrospinale in una coorte di pazienti con malattia del motoneurone: uno studio trasversale (Gagliardi *et al.*, 2021).

Con l'espressione "malattia del motoneurone" (MND) si intende un raro gruppo di malattie caratterizzate dalla degenerazione dei motoneuroni (MN). La forma più comune di MND, la sclerosi laterale amiotrofica (SLA), è una malattia incurabile con un tasso di progressione variabile. La ricerca di biomarcatori affidabili, in grado di discriminare tra diverse forme di SLA, è fondamentale per classificare correttamente i pazienti e per identificare coloro che, molto probabilmente, potrebbero trarre beneficio da terapie sperimentali. La catena pesante (p-NfH) e la catena leggera del neurofilamento (NfL) sono componenti specifici del citoscheletro del neurone e possono rappresentare marcatori affidabili per la stima del danno neuronale nei disturbi neurologici. In questo studio, abbiamo descritto la nostra coorte di pazienti SLA al fine di comprendere se e come i livelli di p-NfH e NfL nel liquido cerebrospinale possano riflettere il tasso di progressione, coinvolgimento del MN e l'entità della neurodegenerazione. Il p-NfH e il NfL del liquido cerebrospinale sono risultati essere significativamente aumentati nei pazienti SLA rispetto ai controlli sani, inclusi i pazienti con altre forme di MND, ed erano più elevati nei pazienti con un decorso della malattia più aggressivo, essendo quindi dei validi marcatori per il tasso di progressione. Nel nostro centro, abbiamo anche valutato l'accuratezza della diagnosi basata sui livelli di p-NfH e NfL, identificando in modo sensibile e specifico i valori soglia di 0,652 ng/mL per p-NfH ($P < 0.0001$) nel liquido cerebrospinale e di 1261 pg/mL per NfL ($P < 0.0001$). I neurofilamenti del liquido cerebrospinale erano significativamente correlati con il tasso di progressione della SLA. Nel complesso, i neurofilamenti del liquido cerebrospinale sembrano riflettere l'entità della neurodegenerazione nella MND e rappresentano biomarcatori diagnostici e prognostici affidabili nella SLA.

Gagliardi D, Faravelli I, Meneri M, Saccomanno D, Govoni A, Magri F, Ricci G, Siciliano G, Pietro Comi G, Corti S.

Diagnostic and prognostic value of CSF neurofilaments in a cohort of patients with motor neuron disease: A cross-sectional study.

J Cell Mol Med. 2021 Apr;25(8):3765-3771.

La variante L144S nel gene *SOD1* in omozigosi produce una forma grave di sclerosi laterale amiotrofica in una famiglia iraniana (Gagliardi *et al.*, 2021).

Obiettivi: La sclerosi laterale amiotrofica (SLA) è una devastante malattia neurodegenerativa caratterizzata dalla degenerazione dei motoneuroni che determina atrofia muscolare progressiva, debolezza e morte per insufficienza respiratoria. Metodi: qui riportiamo i risultati clinici e molecolari di una famiglia iraniana affetta da una forma grave di SLA familiare ad esordio precoce. Risultati: tre fratelli nati da genitori consanguinei hanno sviluppato una forma di SLA caratterizzata da un precoce coinvolgimento degli arti inferiori e da una rapida progressione, rivelandosi fatale all'età di 16 anni per uno di loro. L'analisi molecolare a livello del gene *SOD1* ha rivelato la sostituzione in omozigosi c.434T>C nell'esone 5 con conseguente cambiamento dell'amminoacido p.Leu144Ser (L144S), precedentemente riportato come variante dominante. Entrambi i genitori erano portatori eterozigoti. La madre ha recentemente sviluppato una SLA a esordio tardivo con un coinvolgimento predominante del motoneurone superiore. Discussione: questo studio aggiunge la mutazione p.L144S alla breve lista di mutazioni di *SOD1* in omozigosi, suggerendo che una progressione della malattia a esordio precoce e/o più rapida può verificarsi quando sono presenti due alleli mutati.

Gagliardi D, Ahmadinejad M, Del Bo R, Meneri M, Comi GP, Corti S, Ronchi D.
Homozygous SOD1 Variation L144S Produces a Severe Form of Amyotrophic Lateral Sclerosis in an Iranian Family.
Neurol Genet. 2021 Dec 16;8(1):e645.

I livelli di sodio sono predittori della disabilità alla dimissione nella sindrome di Guillain-Barré: uno studio di coorte retrospettivo (Gagliardi *et al.*, 2021)

La sindrome di Guillain-Barré (GBS) è una poliradiculopatia infiammatoria con complicanze potenzialmente gravi. Sono stati sviluppati strumenti clinici per la classificazione del rischio, ma non è stato riportato alcun biomarcatore prognostico definitivo. L'iponatriemia è frequente nei pazienti con GBS, ma l'impatto dei livelli sierici di sodio sugli esiti clinici è ancora da definire. In questo studio di coorte retrospettivo, abbiamo incluso tutti i pazienti adulti con diagnosi di disturbi dello spettro GBS identificati presso il nostro centro da gennaio 2010 a luglio 2020. La disabilità al momento della dimissione è stata valutata tramite un valore definito GBS Disability Score (GDS) e tutti i dati clinici e di laboratorio sono stati recuperati dalle cartelle cliniche. 30 (58,8%) dei 51 soggetti inclusi nello studio sono stati dimessi con grave disabilità residua ($GDS \geq 3$). Dopo aver tenuto conto dei fattori di confondimento rilevanti, le probabilità di avere una grave disabilità sono diminuite del 27% ($p = 0,027$) per ogni aumento unitario della concentrazione sierica di sodio. A 13 (25,5%) pazienti è stata diagnosticata una iponatriemia da lieve a moderata; l'uso di immunoglobuline per via endovenosa ha aumentato le probabilità di sviluppare iponatriemia. In conclusione, abbiamo trovato una significativa e indipendente relazione tra i livelli sierici base di sodio e una grave disabilità al momento della dimissione nei pazienti con GBS. Nella nostra coorte, l'iponatriemia è stata osservata più frequentemente dopo il trattamento con immunoglobuline per via endovenosa, suggerendo una pseudo-iponatriemia da diluizione come probabile causa.

Gagliardi D, Faravelli I, Podestà MA, Brusa R, Mauri E, Saccomanno D, Di Fonzo A, Bonato S, Scarpini E, Bresolin N, Comi GP, Corti S.
Sodium Levels Predict Disability at Discharge in Guillain-Barré Syndrome: A Retrospective Cohort Study.
Front Neurol. 2021 Sep 7;12:729252.

Gestione dei pazienti con disturbi neuromuscolari nel contesto della pandemia da SARS-Cov-2 (Costamagna *et al.*, 2021)

La pandemia da Coronavirus-19 (COVID-19) ha posto diverse sfide per i pazienti con disturbi neuromuscolari. Il rischio di un decorso grave dell'infezione da SARS-Cov-2 è aumentato in tutte le forme di malattie neuromuscolari anche in quelle meno gravi. Condizioni ad alto rischio includono ridotta apertura delle vie aeree a causa di debolezza orofaringea e rischio di peggioramento con febbre, digiuno o infezione. L'isolamento può inoltre avere un impatto sui regimi di terapie come nusinersen, glucosidasi alfa, immunoglobulina endovenosa e infusioni di rituximab che richiedono una somministrazione in ambienti ospedalieri. Inoltre, alcuni farmaci specifici per il trattamento dell'infezione da SARS-CoV 2 alterano significativamente la funzionalità neuromuscolare. L'utilizzo di cloroquina e azitromicina non sono raccomandate nei pazienti con miastenia gravis senza supporto ventilatorio e un posizionamento prono per tempi prolungati può influenzare l'efficacia dei trattamenti. Altre terapie possono influire su specifiche malattie neuromuscolari (metaboliche, mitocondriali, miotonica) e approcci sperimentali per la malattia da covid-19 possono essere somministrate solo dopo aver consultato lo specialista che si occupa del paziente affetto da malattie neuromuscolari. La riorganizzazione dei servizi ospedalieri e ambulatoriali può modificare la gestione dei pazienti non affetti da COVID -19 e dei loro assistenti, favorendo approcci a distanza. Tuttavia, la letteratura sulla validità di una teleterapia in questo sottogruppo di pazienti è scarsa. Così, mentre la prima ondata della pandemia sta progredendo, medici e ricercatori dovrebbero affrontare queste questioni aperte cruciali per garantire un'adeguata assistenza ai

pazienti affetti da malattie neuromuscolari. Questo lavoro riassume i dati disponibili finora e fornisce una guida sia per i neurologi generici che per gli specialisti nel campo delle malattie neuromuscolari per la gestione di questi pazienti NMD al tempo del 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. 2021 May;268(5):1580-1591.

Effetti del COVID-19 sulla qualità di vita di pazienti con disturbi neuromuscolari in Lombardia (Gagliardi *et al.*, 2021).

I pazienti con disturbi neuromuscolari (NMD), tra cui molti individui anziani, immunodepressi e disabili, sono stati particolarmente colpiti durante la pandemia da COVID-19 in Lombardia, una zona ad alta incidenza di COVID-19 tra febbraio e maggio 2020. In questo studio, abbiamo voluto valutare gli effetti della pandemia da COVID-19 sulla qualità di vita (QoL) dei pazienti e sul carico della malattia percepito da questo gruppo di pazienti. A questo proposito, abbiamo condotto uno studio trasversale basato su un'indagine telefonica tra il 1° giugno e il 14 giugno 2020, su un campione di 240 pazienti con NMD seguiti presso la nostra clinica a Milano. Abbiamo chiesto informazioni sugli effetti sulla patologia e sulla qualità di vita percepiti prima e durante la pandemia da COVID-19. Abbiamo raccolto le risposte sull'accesso alle cure ambulatoriali e ai servizi ausiliari. Abbiamo inoltre studiato la presenza di sintomi indicativi di infezione da COVID-19 e di casi confermati. L'analisi dei dati raccolti ha mostrato i seguenti risultati. Abbiamo raccolto 205 risposte: 53 pazienti (25.9%) hanno riportato un peggioramento soggettivo delle malattie preesistenti. La qualità di vita dei pazienti ha mostrato un significativo peggioramento nel periodo post-pandemico. Le visite ambulatoriali sono state posticipate in più della metà dei casi (57.1%), con 104 pazienti (50.7%) che hanno subito una cancellazione dei test diagnostici programmati. 79 pazienti (38.5%) hanno riportato almeno un sintomo attribuibile all'infezione da COVID-19. Tra i 10 pazienti testati con tamponi nasofaringei, 6 sono risultati positivi e 3 sono morti per insufficienza respiratoria, compresi 2 pazienti in terapia corticosteroidica/immunosoppressiva. La pandemia da COVID-19 ha influenzato la qualità di vita e limitato l'accesso alle cure ambulatoriali e ai servizi ausiliari dei pazienti con NMD in Lombardia tra febbraio e maggio 2020.

Gagliardi D, Costamagna G, Abati E, Mauri E, Brusa R, Scudeller L, Andreoli L, Citterio G, Piccin E, Magri F, Meneri M, Velardo D, Sclafani M, Bresolin N, Corti S, Comi GP .

Impact of COVID-19 on the quality of life of patients with neuromuscular disorders in the Lombardy area, Italy.

Muscle Nerve. 2021 Oct;64(4):474-482.

Pubblicazioni scientifiche su riviste peer-reviewed (IMPACT FACTOR IF 2020)

Abati E, Magri S, Meneri M, Manenti G, Velardo D, Balistreri F, Pisciotto C, Saveri P, Bresolin N, Comi GP, Ronchi D, Pareyson D, Taroni F, Corti S.

Charcot-Marie-Tooth disease type 2F associated with biallelic HSPB1 mutations.

Ann Clin Transl Neurol. 2021 May;8(5):1158-1164. doi: 10.1002/acn3.51364. Epub 2021 May 4. PMID: 33943041; PMCID: PMC8108422. **IF 4.511.**

Abati E, Sclarandi E, Comi GP, Parente V, Corti S.

Perspectives on hiPSC-Derived Muscle Cells as Drug Discovery Models for Muscular Dystrophies. *Int J Mol Sci.* 2021 Sep 6;22(17):9630. doi: 10.3390/ijms22179630. PMID: 34502539; PMCID: PMC8431796. **IF 5.923.**

Bersani M, Rizzuti M, Pagliari E, Garbellini M, Saccomanno D, Moulton HM, Bresolin N, Comi GP, Corti S, Nizzardo M.

Cell-penetrating peptide-conjugated Morpholino rescues SMA in a symptomatic preclinical model.

Mol Ther. 2021 Nov 19:S1525-0016(21)00583-9. doi: 10.1016/j.ymthe.2021.11.012. PMID: 34808387. **IF 11.454.**

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.** 2021 May;268(5):1580-1591. doi: 10.1007/s00415-020-10149-2. PMID: 32804279; PMCID: PMC7429942. **IF 4.849.**

Costamagna G, Comi GP, Corti S.

Advancing Drug Discovery for Neurological Disorders Using iPSC-Derived Neural Organoids.

Int J Mol Sci. 2021 Mar 6;22(5):2659. doi: 10.3390/ijms22052659. PMID: 33800815; PMCID: PMC7961877. **IF 5.923.**

Gagliardi D, Ahmadinejad M, Del Bo R, Meneri M, Comi GP, Corti S, Ronchi D.

Homozygous SOD1 Variation L144S Produces a Severe Form of Amyotrophic Lateral Sclerosis in an Iranian Family.

Neurol Genet. 2021 Dec 16;8(1):e645. doi: 10.1212/NXG.0000000000000645. PMID: 34926808; PMCID: PMC8678909. **IF 3.485.**

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. 2021 Jan;78(2):561-572. doi: 10.1007/s00018-020-03619-3. PMID: 32803397; PMCID: PMC7872995. **IF 9.261.**

Gagliardi D, Costamagna G, Abati E, Mauri E, Brusa R, Scudeller L, Andreoli L, Citterio G, Piccin E, Magri F, Meneri M, Velardo D, Sclacchi M, Bresolin N, Corti S, Comi GP.

Impact of COVID-19 on the quality of life of patients with neuromuscular disorders in the Lombardy area, Italy.

Muscle Nerve. 2021 Oct;64(4):474-482. doi: 10.1002/mus.27378. PMID: 34296433; PMCID: PMC8441795. **IF 3.217.**

Gagliardi D, Faravelli I, Meneri M, Saccomanno D, Govoni A, Magri F, Ricci G, Siciliano G, Pietro Comi G, Corti S.

Diagnostic and prognostic value of CSF neurofilaments in a cohort of patients with motor neuron disease: A cross-sectional study.

J Cell Mol Med. 2021 Apr;25(8):3765-3771. doi: 10.1111/jcmm.16240. Epub 2021 Feb 20. PMID: 33609080; PMCID: PMC8051694. **IF 5.310.**

Gagliardi D, Faravelli I, Podestà MA, Brusa R, Mauri E, Saccomanno D, Di Fonzo A, Bonato S, Scarpini E, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

Sodium Levels Predict Disability at Discharge in Guillain-Barré Syndrome: A Retrospective Cohort Study.

Front Neurol. 2021 Sep 7;12:729252. doi:10.3389/fneur.2021.729252. PMID: 34557155; PMCID: PMC8453067. **IF 4.003.**

Hensel N, Cieri F, Santonicola P, Tapken I, Schüning T, Taiana M, Pagliari E, Joseph A, Fischer S, Heidrich N, Brinkmann H, Kubinski S, Bergmann AK, Richter MF, Jung K, Corti S, Di Schiavi E, Claus P.

Impairment of the neurotrophic signaling hub B-Raf contributes to motoneuron degeneration in spinal muscular atrophy.

Proc Natl Acad Sci U S A. 2021 May 4;118(18):e2007785118. doi: 10.1073/pnas.2007785118. PMID: 33931501; PMCID: PMC8106332. **IF 11.205.**

Johnson JO, ...Corti S, ...Zucchi E.

Association of Variants in the SPTLC1 Gene With Juvenile Amyotrophic Lateral Sclerosis.

JAMA Neurol. 2021 Oct 1;78(10):1236-1248. doi: 10.1001/jamaneurol.2021.2598. PMID: 34459874; PMCID: PMC8406220. **IF 18.302.**

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. doi: 10.1007/s11239-020-02150-3. PMID: 32458317. **IF 2.300.**

Malacarne C, Galbiati M, Giagnorio E, Cavalcante P, Salerno F, Andreetta F, Cagnoli C, Taiana M, Nizzardo M, Corti S, Pensato V, Venerando A, Gellera C, Fenu S, Pareyson D, Masson R, Maggi L, Dalla Bella E, Lauria G, Mantegazza R, Bernasconi P, Poletti A, Bonanno S, Marcuzzo S. *Dysregulation of Muscle-Specific MicroRNAs as Common Pathogenic Feature Associated with Muscle Atrophy in ALS, SMA and SBMA: Evidence from Animal Models and Human Patients.*

Int J Mol Sci. 2021 May 26;22(11):5673. doi: 10.3390/ijms22115673. PMID: 34073630; PMCID:PMC8198536. **IF 5.923.**

Manini A, Straniero L, Monfrini E, Percetti M, Vizziello M, Franco G, Rimoldi V, Zecchinelli A, Pezzoli G, Corti S, Comi GP, Duga S, Di Fonzo A.

Screening of LRP10 mutations in Parkinson's disease patients from Italy.

Parkinsonism Relat Disord. 2021 Aug;89:17-21. doi: 10.1016/j.parkreldis.2021.06.014. PMID: 34216936. **IF 4.891.**

Mauri E, Piga D, Govoni A, Brusa R, Pagliarani S, Ripolone M, Dilella R, Cinnante C, Sciacco M, Cassandrini D, Nigro V, Bresolin N, Corti S, Comi GP, Magri F.

Early Findings in Neonatal Cases of <i>RYR1</i>-Related Congenital Myopathies.

Front Neurol. 2021 Jun 28;12:664618. doi: 10.3389/fneur.2021.664618. PMID: 34262519; PMCID: PMC8273285. **IF 4.003.**

Mauri E, Piga D, Pagliarani S, Magri F, Manini A, Sciacco M, Ripolone M, Napoli L, Borellini L, Cinnante C, Cassandrini D, Corti S, Bresolin N, Comi GP, Govoni A.

CACNA1S mutation associated with a case of juvenile-onset congenital myopathy.

J Neurol Sci. 2021 Dec 15;431:120047. doi: 10.1016/j.jns.2021.120047. PMID: 34763287. **IF 3.181.**

Mercuri E, Muntoni F, Baranello G, Masson R, Boespflug-Tanguy O, Bruno C, Corti S, Daron A, Deconinck N, Servais L, Straub V, Ouyang H, Chand D, Tauscher- Wisniewski S, Mendonca N, Lavrov A;

STRIVE-EU study group. Onasemnogene abeparvovec gene therapy for symptomatic infantile-onset spinal muscular atrophy type 1 (STRIVE-EU): an open-label, single-arm, multicentre, phase 3 trial. **Lancet Neurol.** 2021 Oct;20(10):832-841. doi: 10.1016/S1474-4422(21)00251-9. PMID: 34536405. **IF 44.182.**

Monfrini E, Cogiamanian F, Salani S, Straniero L, Fagiolarini G, Garbellini M, Carsana E, Borellini L, Biella F, Moggio M, Bresolin N, Corti S, Duga S, Comi GP, Aureli M, Di Fonzo A.

A Novel Homozygous VPS11 Variant May Cause Generalized Dystonia.

Ann Neurol. 2021 Apr;89(4):834-839. doi: 10.1002/ana.26021. PMID: 33452836; PMCID: PMC8048445. **IF 10.422.**

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. 2021 Mar;28(3):e25-e27. doi: 10.1111/ene.14679. PMID: 33314449. **IF 6.089.**

Pietroboni AM, Lanfranchi 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 Aug;16(5):1247-1252. doi: 10.1007/s11739-021-02634-x. PMID: 33565035; PMCID: PMC7872881. **IF 3.397.**

Riboldi GM, Faravelli I, Kuwajima T, Delestrée N, Dermentzaki G, De Planell- Sager M, Rinchetti P, Hao LT, Beattie CC, Corti S, Przedborski S, Mentis GZ, Lotti F.

Sumoylation regulates the assembly and activity of the SMN complex.

Nat Commun. 2021 Aug 19;12(1):5040. doi: 10.1038/s41467-021-25272-5. PMID: 34413305; PMCID: PMC8376998. **IF 14.919.**

van Rheenen W,... Corti S,... Veldink JH.

Common and rare variant association analyses in amyotrophic lateral sclerosis identify 15 risk loci with distinct genetic architectures and neuron-specific biology.

Nat Genet. 2021 Dec;53(12):1636-1648. doi: 10.1038/s41588-021-00973-1. PMID: 34873335; PMCID: PMC8648564. **IF 38.330.**

Abstract presentati a congressi scientifici nazionali e internazionali

M. Rizzuti, M. Bersani, E. Pagliari, M. Garbellini, D. Saccomanno, N. Bresolin, G. P. Comi, S. Corti, M. Nizzardo.

Cell-penetrating peptides-conjugated Morpholino: a novel therapeutic approach for the treatment of Spinal Muscular Atrophy symptomatic cases.

XXI Congresso Nazionale Associazione Italiana Miologia. Digital Edition.

V. Melzi, M. Rizzuti, D. Gagliardi, M. Meneri, P. Masrori, F. Biella, P. Van Damme, GP. Comi, M. Nizzardo, S.Corti.

Insights for the development of a miRNA-based therapeutic strategy in ALS exploiting iPSC-derived motor neurons and exosomes.

XXI Congresso Nazionale Associazione Italiana Miologia. Digital Edition.

A. Govoni, G. et al, S. Corti, E. Pegoraro, G. Siciliano, GP. Comi, L. Maggi. 6MWT as measure of fatigability in SMA type 3 patients treated with Nusinersen.

XXI Congresso Nazionale Associazione Italiana Miologia. Digital Edition.

A. Govoni, A. Nuredini, M. Taiana, M. Nizzardo, A., et al.. GP. Comi, S.Corti.

Phenotypic spectrum of IGHMBP2 gene mutations and natural history study in a cohort of European patients. *XXI Congresso Nazionale Associazione Italiana Miologia.* Digital Edition. 1-4 Dicembre 2021.

G. Costamagna, N. Galli, M. Rizzuti, B. Frizzi, F. Biella, M. Taiana, S.B. Ghezzi, G.P. Comi, I. Faravelli, M. Nizzardo, S. Corti.

Human spinal cord-like organoids to model C9orf72 ALS and test new therapies in vitro. *7th Congress of the European Academy of Neurology (EAN).* Digital Edition. 19-22 Giugno.

N. Galli, B. Frizzi, I. Faravelli, M. Rizzuti, G. Costamagna, F. Biella, M. Garbellini, G. Garrone, M. Nizzardo, P. Rinchetti, E. Pagliari, GP. Comi and S Corti.

Multi-OMICS approach on spinal cord organoids to assess new candidate genes/pathways in C9orf72-Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neuroscience 2021.* Digital edition. 8-11 Novembre 2021.

N. Galli, B. Frizzi, I. Faravelli, M. Rizzuti, G. Costamagna, F. Biella, M. Garbellini, G. Garrone, M. Nizzardo, P. Rinchetti, E. Pagliari, GP. Comi and S Corti.

Multi-OMICs approach to elucidate the role of candidate modifiers in C9orf72-ALS patient-derived spinal cord organoids. *BraYn*. Pisa, Ottobre 20-22 2021

R. De Gioia, A. Anastasia, M. Contardo, M. Nizzardo, L. Ottoboni, S. Bono, S. Salani, V. Melzi, S. Pagliarani, E. Abati, N. Bresolin, G. Comi, S. Corti, F. Rizzo.

“Unravelling combined RNA interference and gene therapy in vitro and in vivo disease”.

BraYn. Pisa, Ottobre 20-22 2021.

E. Pagliari, A. Anastasia, M. Garbellini, P. Rinchetti, V. Melzi, M. Taiana, GP. Comi, S. Corti, M. Nizzardo.

Optimization of AAV9 gene therapy for Spinal Muscular Atrophy with Respiratory Distress type 1 using in vivo disease model.

BraYn. Pisa, Ottobre 20-22 2021.

M. Rizzuti, V. Melzi, D. Resnati, M. Meneri, D. Gagliardi, L. Dioni, F. Biella, V. Bollati, S. Barabino, GP. Comi, M. Nizzardo, S. Corti.

Insights for the development of a miRNA-based therapeutic strategy in ALS exploiting iPSC-derived motor neurons and exosomes.

ENCALS, 12-14 Maggio 2021.

P Rinchetti, I. Faravelli, S. Mancinelli, L. Mapelli, M. Tambalo, M. Rizzuti, C. Cordiglieri, G. Forotti, C. Peano, P. Kunderfranco, N. Bresolin, GP. Comi, E. D’Angelo, S. Lodato, M. Nizzardo, S. Corti. “Disease signatures of Spinal Muscular Atrophy in CNS organoids reverted by peptide-antisense oligonucleotides”.

4th edition of MyDev 2021, 17 Settembre, Milano.

P. Rinchetti, I. Faravelli, S. Mancinelli, L. Mapelli, M. Tambalo, M. Rizzuti, C. Cordiglieri, G. Forotti, C. Peano, P. Kunderfranco, N. Bresolin, GP. Comi, E. D’Angelo, M. Nizzardo, S. Lodato, S. Corti. “Spinal Muscular Atrophy associated disease signature of in CNS organoids reverted by peptide-antisense oligonucleotides”. *Annual SMA Conference 2021, Digital edition*.

E. Mercuri, F. Muntoni, G. Baranello, R. Masson, O. Boespflug-Tanguy, C. Bruno, S. Corti, A. Daron, N. Deconinck, Servais, V. Straub, H. Ouyang, D. Chand, S. Tauscher-Wisniewski, Mendonca N, Lavrov A.

Onasemnogene abeparvovec gene therapy for symptomatic infantile-onset spinal muscular atrophy type 1 (STRIVE-EU): an open-label, single-arm, European cohort phase 3 study.

EAN meeting 2021.

G. Costamagna, N. Galli, M. Rizzuti, B. Frizzi, F. Biella, M. Taiana, S.B. Ghezzi, G.P. Comi, I. Faravelli, M. Nizzardo, Corti S.

Human spinal cord-like organoids to model C9orf72 ALS and test new therapies in vitro.

EAN meeting 2021.

G. Costamagna, F. Biella, M. Taiana, G.P. Comi, N. Bresolin, I. Faravelli, M. Nizzardo, S. Corti. C9orf72 ALS human neural organoids for the development of new therapeutics and disease modeling. *International Congress on Neuromuscular Diseases (ICNMD), Digital edition 2021*.

G. Costamagna, N. Galli, M. Rizzuti, B. Frizzi, F. Biella, M. Taiana, S.B. Ghezzi, G.P. Comi, I. Faravelli, M. Nizzardo, S. Corti.

Modeling C9orf72 ALS in vitro using human spinal cord organoids.

World Congress of Neurology (WCN), Digital edition 2021.

A. Govoni et al....S. Corti, G. Siciliano, G.P. Comi.

6MWT as measure of motor function and endurance in SMA type 3 patients treated with Nusinersen. *World Congress of Neurology (WCN), Digital edition 2021*.

M. Bersani, D. Gagliardi, M. Taiana, F. Biella, M. Nizzardo, S. Ghezzi, N. Bresolin, G. Comi, S. Corti. Morpholino oligomers ameliorates pathological hallmarks in C9orf72 cellular lines and mice. *ENCALS 2021*.

Collaborazioni scientifiche in atto con istituti nazionali ed internazionali:

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.

“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.

“Identificazione di molecole con un ruolo neuroprotettivo nelle malattie del motoneurone”, Prof. Eva Hedlund, PhD, Professore Associato di Neurobiologia, Department of Neuroscience, Stockholm University, Stockholm Sweden.

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

“Basi Molecolari della Sclerosi Laterale Amiotrofica” SLAGEN consortium.

“European ALS population study”, EURALS Consortium.

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

“Basi molecolari della SMA”, Dr. Uberto Pozzoli, IRCCS E. Medea Bosisio, Parini, Italy.

“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.

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

Translating molecular mechanism into ALS risk and patient’s well being (TRANS-ALS) Prof. Cereda, IRCCS Istituto Neurologico Monidino, Prof. Ratti, Istituto Auxologico.

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

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

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

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

Prof. Michela Deleidi, Department of Neurodegenerative Diseases, University of Tübingen.

Prof. Philip Van Damme, University of Leuven.

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

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

Prof. Valentina Bollati, Dipartimento di Scienze Cliniche e di Comunità.

Dr. Simona Lodato, Humanitas Research Center, Milan.

Finanziamenti per progetti di ricerca ottenuti da enti pubblici o privati

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).

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).

Ministero della Salute, Bando Ricerca Finalizzata 2019-2021. “3D human models to identify early neuronal vulnerability as a therapeutic target for ALS”.

Telethon grant 2019-2022. “Knockdown and Replacement of MFN2: a Gene Therapy to treat Dominantly Inherited Peripheral Neuropathy CMT2A”.

FRRB 2017-2020 – “Translating molecular mechanisms into ALS risk and patient’s well-being” (TRANS-ALS).

FRRB 2019-2022. “An integrated omics approach for patients with rare neurological disorders: towards personalized clinical care and trial readiness”. Care4NeuroRare.

SMA Europe 2019-2021: “Unravelling the role of Stathmin-2 in SMA as a key cause of MN vulnerability and as therapeutic target”.

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).

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).

Fondazione Cariplo 2022-2024 “Stathmin-2 in Spinal Muscular Atrophy (SMA): assessing molecular and therapeutic 11.

Contratto di ricerca commissionata, SwanBio Therapeutics, 2020-2021. “To develop dual-edge sword vectors and MFN gene therapies”.

Progetto Bando Interno Policlinico 2022-2024 “3D modelling of neuromuscular unit to discover pathogenetic mechanisms and therapeutics for motor neuron diseases” (PR-0449/RC-VAR0449).

Contratto di ricerca commissionata, ITALFARMACO, 2021. “La caratterizzazione di inibitori di HDAC-6 in modelli in vitro di CMT2A”.

Roche no profit Grant 2020-2022. “3D human-stem cell spinal cord model as a multifaceted tool to investigate risdiplam effects and variability of the therapeutic response”.role in SMA human and murine models” (2020-3623).

Titolarità di brevetti

Titolarità di Brevetto Internazionale: “Inhibitor of miR-A and uses thereof” (n°102019000004571). Brevetto congiunto UNIMI/UNIMB/IRCCS Foundation Ca’ Granda.

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

MEDICI

Dott. Monica Sciacco

Dott. Daniele Velardo

Dott. Maurizio Moggio (Consulente)

BIOLOGI

Dott. Gigliola Fagiolari

Dott. Laura Napoli

Dott. Simona Zanotti

Dott. Michela Ripolone

TECNICI

Dott. Patrizia Ciscato

AMMINISTRATIVI

Dott. Alessandra Pedrazzini

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

L'Unità Operativa è costituita da:

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

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

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

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

Il Centro riceve numerosi pazienti e biopsie anche da altri ospedali siti in tutto il territorio nazionale.

L'Unità è certificata ISO 9001 dall'agosto 2002 da parte di DNV e dal luglio 2005 da parte di BVQI per: "Progettazione ed erogazione di servizi di diagnostica morfologica e ricerca nell'ambito di malattie rare neuromuscolari, in regime di degenza, ambulatoriale e in convenzione per enti terzi. Gestione di una Banca di tessuto muscolare, nervo periferico e DNA".

Attività diagnostica

Nell'anno 2021 l'attività assistenziale riguardante le malattie neuromuscolari risulta ridotta rispetto a quella degli anni precedente a causa della pandemia SARS-Cov2.

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

Durante l'anno 2021 sono state studiate e refertate 106 biopsie muscolari e 9 biopsie di nervo.

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

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

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

In totale, relativamente a quanto sopra specificato, sono stati eseguiti 1598 tests.

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

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

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

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

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

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

- 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.

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

- Sono state effettuate spedizioni di campioni biologici di pazienti affetti da malattie Rare Neuromuscolari a n. 10 centri di diagnostica e ricerca sia nazionali sia internazionali.
- Sono state effettuate spedizioni per un totale di n. 34 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.

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 2021 i seguenti risultati:

Pubblicazioni 2021 UO Malattie Neuromuscolari e Rare

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.

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

J Neurol. 2021 Jan;268(1):356-366.

IF: 4.849

La distrofia muscolare Facio-scapolo-omeroale (FSHD) è una miopatia ereditaria caratterizzata da una distribuzione caratteristica della debolezza muscolare, che riguarda soprattutto i muscoli del viso, delle scapole e la parte superiore delle braccia. In questo lavoro sono stati riportati i risultati di uno studio multicentrico condotto su 246 soggetti registrati nel database del Registro Nazionale Italiano per la FSHD e provenienti da 14 centri italiani. Sono stati riesaminate le caratteristiche fenotipiche dei pazienti e dei loro famigliari, portatori del frammento ridotto D4Z4, ai tempi T0 e dopo 5 anni di follow-up.

I principali risultati ottenuti sono rappresentati da un peggioramento della malattia nel 79,4% dei pazienti e nel 38.1% dei famigliari. Il 79,1% dei famigliari asintomatici rimane asintomatico. Lo score FSHD più alto è stato riscontrato nei soggetti che presentano debolezza facciale e scapolare al tempo T0.

Gang Q, Bettencourt C, Brady S, Holton JL, Healy EG, McConville J, Morrison PJ, Ripolone M, Violano R, Sciacco M, Moggio M, Mora M, Mantegazza R, Zanutti S, Wang Z, Yuan Y, Liu WW, Beeson D, Hanna M, Houlden H.

Genetic defects are common in myopathies with tubular aggregates.

Ann Clin Transl Neurol. 2021 Dec 15.

IF: 4.511

Nonostante alcuni geni siano già associati a miopatie con aggregati tubulari, molti casi rimangono ancora privi di una conferma genetica. In questo studio multicentrico, sono stati raccolti i campioni biotici muscolari di 33 pazienti che hanno ricevuto una diagnosi di miopatia con aggregati tubulari. È stato eseguito per ogni caso il sequenziamento dell'intero esoma che ha portato alla rilevazione di varianti patogene o probabili varianti patogene nei seguenti geni: STIM1, ORAI1, PGAM2, SCN4A, CASQ1 and ALG14. Lo studio ha portato alla luce anche due nuove varianti. I risultati hanno inoltre confermato che mutazioni nei geni legati alle vie di segnalazione del calcio e alla via delle glicosilazione N-linked sono frequentemente coinvolti in miopatie da aggregati tubulari.

Muscle Proteomic Profile before and after Enzyme Replacement Therapy in Late-Onset Pompe Disease.

Moriggi M, Capitanio D, Torretta E, Barbacini P, Bragato C, Sartori P, Moggio M, Maggi L, Mora M, Gelfi C.

Int J Mol Sci. 2021 Mar 11;22(6):2850.

IF: 5.923

La malattia di Pompe è causata da un deficit dell'enzima lisosomiale alfa-glucosidasi acida (GAA), responsabile della degradazione del glicogeno. La forma ad esordio tardivo, late-onset, è caratterizzata da una progressiva debolezza muscolare prossimale e assiale e da atrofia, spesso con un coinvolgimento respiratorio. La ERT, terapia enzimatica sostitutiva, basata sull'infusione dell'enzima GAA ricombinante umano è il solo trattamento disponibile, tuttavia la sua efficacia è variabile. Per indagare l'effetto della ERT sul muscolo di pazienti affetti, attraverso approcci di proteomica, sono state valutati diversi aspetti relativi, l'autofagia, il folding proteico, lo stress del reticolo ecc.

I nostri risultati indicano che una terapia prolungata nel tempo è necessaria per il ripristino della funzione muscolare, inoltre l'inizio della terapia precoce, nelle fasi iniziali della malattia è molto importante per migliorare l'esito terapeutico a lungo termine.

Villa C, Legato M, Umbach A, Riganti C, Jones R, Martini B, Boido M, Medana C, Facchinetti I, Barni D, Pinto M, Arguello T, Belicchi M, **Fagiolari G**, Liaci C, **Moggio M**, Ruffo R, Moraes CT, Monguzzi A, Merlo GR, Torrente Y.

Treatment with ROS detoxifying gold quantum clusters alleviates the functional decline in a mouse model of Friedreich ataxia.

Sci Transl Med. 2021 Aug 18;13(607):eabe1633.

IF: 17.992

L' atassia di Friedreich (FRDA) è una malattia neurodegenerativa causata da un'anomalia del gene che codifica per una proteina denominata fratassina (FXN). Questa patologia colpisce principalmente il sistema nervoso centrale e periferico ed insorge generalmente nell'età della pubertà manifestandosi con atassia degli arti e della marcia, una neuropatia sensoriale assonale, disartria e debolezza. Attualmente non esiste una terapia risolutiva per la FRDA e il quadro sintomatologico viene oggi trattato in maniera multidisciplinare. La fratassina è importante per il corretto funzionamento mitocondriale ed ha un ruolo fondamentale nell'omeostasi del ferro a livello intracellulare. La sua mancanza determina una maggiore esposizione allo stress ossidativo con un conseguente accumulo di metalli ed una ridotta attività della catena respiratoria mitocondriale, tutto ciò determina l'aumento della generazione di radicali liberi provocando la morte delle cellule neuronali e la neurodegenerazione. La somministrazione di nanoparticelle composte da clusters di atomi di oro comporta una riduzione del danno ossidativo e un miglioramento della funzionalità mitocondriale sia nelle cellule di soggetti affetti da FRDA sia in modelli murini. Inoltre, attraverso meccanismi che riducono l'autofagia, è stata ottenuta una maggior espressione della fratassina. Complessivamente, questi risultati incoraggiano una diretta applicazione nelle strategie cliniche sperimentali per il trattamento della FRDA.

Ticci C, Orsucci D, Ardisson A, Bello L, Bertini E, Bonato I, Bruno C, Carelli V, Diodato D, Doccini S, Donati MA, Dosi C, Filosto M, Fiorillo C, La Morgia C, Lamperti C, Marchet S, Martinelli D, Minetti C, **Moggio M**, Mongini TE, Montano V, Moroni I, Musumeci O, Pancheri E, Pegoraro E, Primiano G, Procopio E, Rubegni A, Scalise R, **Sciocco M**, Servidei S, Siciliano G, Simoncini C, Tolomeo D, Tonin P, Toscano A, Tubili F, Mancuso M, Battini R, Santorelli FM.

Movement Disorders in Children with a Mitochondrial Disease: A Cross-Sectional Survey from the Nationwide Italian Collaborative Network of Mitochondrial Diseases.

J Clin Med. 2021 May 12;10(10):2063.

IF: 4.242

Le malattie mitocondriali ad esordio infantile sono spesso caratterizzate da disordini del movimento, tuttavia, le caratteristiche di queste condizioni non sono ancora state studiate in dettaglio. In questo studio, è stata condotta un'analisi retrospettiva su una coorte di pazienti affetti da malattie mitocondriali con disordini del movimento afferenti al Network Nazionale Italiano. Sono stati indagati 102 pazienti. Di questi, 45 presentano disordini del movimento. L'atassia, era il disturbo del movimento più comune, seguito da distonia, tremore, disturbi ipocinetici corea e mioclono. Durante il decorso della malattia, la maggior parte dei pazienti (67,7%) ha riscontrato un peggioramento del disturbo del movimento. 41 pazienti presentavano mutazioni puntiformi del DNA mitocondriale, 10 pazienti erano caratterizzati da riarrangiamenti e 41 pazienti avevano mutazioni nei geni codificanti il DNA nucleare.

32 pazienti hanno ricevuto un trattamento farmacologico, i farmaci più utilizzati erano clonazepam e baclofen orale. In conclusione, una migliore delineazione dei fenotipi dei disturbi del movimento a partire dall'infanzia può migliorare il lavoro diagnostico, la gestione della messa a punto e il trattamento dei pazienti affetti.

Iacomussi S, Casareto L, Locatelli M, Wang CM, Borroni S, Mascalzoni D, Sangiorgi L; Telethon Network of Genetic Biobanks.

Governance of Access in Biobanking: The Case of Telethon Network of Genetic Biobanks.

Biopreserv Biobank. 2021 Dec;19(6):483-492.

IF: 2.300

Questo articolo si basa sull'esperienza delle biobanche genetiche appartenenti al gruppo TELETHON (TNGB) dal 2008 al 2020. Con lo scopo di migliorare la qualità delle biobanche e il loro ruolo nel progresso della ricerca biomedica, è stata posta l'attenzione in particolare alle modalità di accesso ai campioni. La misura di qualità di una biobanca, infatti, non si basa solamente sul numero dei campioni conservati e sulla loro qualità, ma anche sull'efficacia della governance di accesso, cioè quell'insieme di regole e norme che forniscono linee guida etiche e procedure pratiche alla gestione delle richieste provenienti dai vari ricercatori che vogliono accedere ai campioni e ai dati della biobanca.

Analizzando le motivazioni di tutte le richieste respinte in questi anni, in questo articolo vengono presentate tutte le strategie e le soluzioni utilizzate dal TNGB che hanno permesso di ottenere una governance più trasparente ed agevole.

Diaz-Manera J, Kishnani PS, Kushlaf H, Ladha S, Mozaffar T, Straub V, Toscano A, van der Ploeg AT, Berger KI, Clemens PR, Chien YH, Day JW, Illarioshkin S, Roberts M, Attarian S, Borges JL, Bouhour F, Choi YC, Erdem-Ozdamar S, Goker-Alpan O, Kostera-Pruszczyk A, Haack KA, Hug C, Huynh-Ba O, Johnson J, Thibault N, Zhou T, Dimachkie MM, Schoser B; COMET Investigator Group.

Safety and efficacy of avalglucosidase alfa versus alglucosidase alfa in patients with late-onset Pompe disease (COMET): a phase 3, randomised, multicentre trial.

Lancet Neurol. 2021 Dec;20(12):1012-1026.

IF: 44.182

La malattia di Pompe è causata dalla mancanza o dal malfunzionamento dell'enzima lisosomiale alfa-glucosidasi acida (GAA), con conseguente accumulo di glicogeno nelle cellule dei muscoli di tutto il corpo. Questo fenomeno porta a un danno irreversibile ai muscoli stessi, inclusi i muscoli respiratori come il diaframma e i muscoli scheletrici, che consentono il movimento.

Lo studio clinico di Fase III COMET, randomizzato, in doppio cieco è stato condotto in 55 centri distribuiti in 20 paesi, ed ha coinvolto 100 pazienti affetti dalla forma late-onset della malattia di Pompe. Lo studio ha valutato la sicurezza e l'efficacia di un nuovo farmaco, l'avalglucosidasi alfa rispetto al farmaco alglucosidasi alfa (standard di cura). L'avalglucosidasi è stato disegnato in modo

da aumentare l'interazione con il recettore del mannosio 6 fosfato e conseguentemente migliorare l'assorbimento.

I risultati preliminari indicano un miglioramento sia nella funzionalità dei muscoli respiratori, sia nelle capacità motorie dei pazienti.

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. 2021 Mar;26(2):729-732.

IF: 4.652

Descriviamo il caso clinico di una paziente con depressione e disturbi alimentari che lamenta un'encefalopatia di Wernicke e Beriberi. Il Beriberi è una malattia causata dalla carenza di tiamina (o vitamina B1). Le biopsie di muscolo scheletrico e nervo periferico hanno rilevato una grave neuropatia assonale. La somministrazione di tiamina ha determinato un rapido miglioramento delle affezioni polmonari e cardiache, ma non hanno avuto un riscontro positivo sul miglioramento della neuropatia periferica.

Barp A, Velardo D, Ciscato P, Sansone VA, Lunetta C.

Anti-HMGCR myopathy misdiagnosed as motor neuron disease and complicated with COVID-19 infection.

Neurol Sci. 2021 May;42(5):1679-1682.

IF: 2.415

Le miopatie infiammatorie rappresentano il gruppo più numeroso tra le malattie muscolari acquisite e potenzialmente trattabili. La miopatia autoimmune necrotizzante rappresenta circa il 19% di tutte le miopatie infiammatorie, ed è clinicamente caratterizzata da debolezza muscolare prossimale con esordio acuto o subacuto ed alti livelli di creatinichinasi (CK).

Abbiamo descritto il caso di un paziente di 64 anni, al quale è stata inizialmente diagnosticata una malattia del motoneurone, e nel quale ulteriori accertamenti, in particolare una biopsia muscolare, hanno evidenziato una malattia autoimmune necrotizzante. Il paziente ha inoltre contratto l'infezione da SARS COV-2, i cui sintomi spesso possono essere mascherati dalle terapie immunosoppressive. L'infezione da COVID deve quindi essere presa in considerazione, soprattutto in questo periodo di pandemia, come possibile causa scatenante delle ricadute nei pazienti che soffrono di malattie infiammatorie.

Ravaglia S, Malovini A, Cirio S, Danesino C, De Filippi P, Moggio M, Mongini T, Maggi L, Servidei S, Vianello A, Toscano A, Tonin P, Maioli MA, Parini R, Filosto M, Crescimanno G, Arceri S, Piran M, Carlucci A.J

Polymorphism in exercise genes and respiratory function in late-onset Pompe disease.

Appl Physiol (1985). 2021 Dec 1;131(6):1762-1771. doi: 10.1152/jappphysiol.00154.2020.

IF: 3.455

Si tratta di uno studio genetico molto innovativo sulla Malattia di Pompe in quanto, per la prima volta, i polimorfismi genetici non sono stati valutati, come in passato, in relazione alla risposta terapeutica, ma per comprenderne il ruolo nel definire le caratteristiche e la composizione dei muscoli affetti in relazione alla resa dei muscoli stessi. Ciò vale soprattutto per i muscoli respiratori, spesso molto compromessi.

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

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

Characterization of patients with Becker muscular dystrophy by histology, magnetic resonance imaging, function, and strength assessments.

Muscle Nerve. 2021 Dec 16. doi: 10.1002/mus.27475.

Johari M, Sarparanta J, Vihola A, Jonson PH, Savarese M, Jokela M, Torella A, Piluso G, Said E, Vella N, Cauchi M, Magot A, Magri F, Mauri E, Kornblum C, Reimann J, Stojkovic T, Romero NB, Luque H, Huovinen S, Lahermo P, Donner K, Comi GP, Nigro V, Hackman P, Udd B.

Missense mutations in small muscle protein X-linked (SMPX) cause distal myopathy with protein inclusions.

Acta Neuropathol. 2021 Aug;142(2):375-393. doi: 10.1007/s00401-021-02319-x.

Monfrini E, Cogiamanian F, Salani S, Straniero L, Fagiolari G, Garbellini M, Carsana E, Borellini L, Biella F, Moggio M, Bresolin N, Corti S, Duga S, Comi GP, Aureli M, Di Fonzo A.

A Novel Homozygous VPS11 Variant May Cause Generalized Dystonia.

Ann Neurol. 2021 Apr;89(4):834-839. doi: 10.1002/ana.26021.

Mauri E, Piga D, Govoni A, Brusa R, Pagliarani S, Ripolone M, Dilella R, Cinnante C, Sciacco M, Cassandrini D, Nigro V, Bresolin N, Corti S, Comi GP, Magri F.

Early Findings in Neonatal Cases of RYR1-Related Congenital Myopathies.

Front Neurol. 2021 Jun 28;12:664618. doi: 10.3389/fneur.2021.664618.

Gagliardi D, Faravelli I, Meneri M, Saccomanno D, Govoni A, Magri F, Ricci G, Siciliano G, Pietro Comi G, Corti S.

Diagnostic and prognostic value of CSF neurofilaments in a cohort of patients with motor neuron disease: A cross-sectional study.

J Cell Mol Med. 2021 Apr;25(8):3765-3771. doi: 10.1111/jcmm.16240.

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. 2021 May;268(5):1580-1591. doi: 10.1007/s00415-020-10149-2. Review.

Mauri E, Piga D, Pagliarani S, Magri F, Manini A, Sciacco M, Ripolone M, Napoli L, Borellini L, Cinnante C, Cassandrini D, Corti S, Bresolin N, Comi GP, Govoni A.

CACNA1S mutation associated with a case of juvenile-onset congenital myopathy.

J Neurol Sci. 2021 Dec 15;431:120047. doi: 10.1016/j.jns.2021.120047.

Lanfranconi S, Piergallini L, Ronchi D, Valcamonica G, Conte G, Marazzi E, Manenti G, Bertani GA, Locatelli M, Triulzi F, Bresolin N, Scola E, Comi GP.

Clinical, neuroradiological and genetic findings in a cohort of patients with multiple Cerebral Cavernous Malformations.

Metab Brain Dis. 2021 Oct;36(7):1871-1878. doi: 10.1007/s11011-021-00809-1. Epub 2021 Aug 6. PMID: 34357553

Gagliardi D, Costamagna G, Abati E, Mauri E, Brusa R, Scudeller L, Andreoli L, Citterio G, Piccin E, Magri F, Meneri M, Velardo D, Sciacco M, Bresolin N, Corti S, Comi GP.

Impact of COVID-19 on the quality of life of patients with neuromuscular disorders in the Lombardy area, Italy.

Muscle Nerve. 2021 Oct;64(4):474-482. doi: 10.1002/mus.27378.

Rigamonti A, Mantero V, Peverelli L, Pagliarani S, Lucchiari S, Comi G, Gibertini S, Salmaggi A.
p.Asn1180Ile mutation of SCN4A gene in an Italian family with myopathy and myotonic syndrome.

Neurol Sci. 2021 Dec;42(12):5359-5363.

Bersani M, Rizzuti M, Pagliari E, Garbellini M, Saccomanno D, Moulton HM, Bresolin N, Comi GP, Corti S, Nizzardo

Cell-penetrating peptide-conjugated Morpholino rescues SMA in a symptomatic preclinical model.

M.Mol Ther. 2021 Nov 19:S1525-0016(21)00583-9. doi: 10.1016/j.ymthe.2021.11.012.

Messina S, Sframeli M, Maggi L, D'Amico A, Bruno C, Comi G, Mercuri

Spinal muscular atrophy: state of the art and new therapeutic strategies.

E.Neurol Sci. 2021 Apr 19. doi: 10.1007/s10072-021-05258-3. Online ahead of print.PMID: 33871750 Review.

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

DIRETTORE: 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	Piramide della Ricerca, Fondazione IRCCS Policlinico
Dott.ssa Caterina Visconte	Biologa-Borsista Fondazione IRCCS Policlinico
Dott.ssa Marina Arcaro	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 Tiziana Carandini	Neurologo Specialista- PIVA Fondazione IRCCS Policlinico
Dott. Luca Sacchi	Medico Specializzando
Dott. Stefano Floro	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 Giulia Giardinieri	Psicologa – PIVA Fondazione IRCCS Policlinico
Dott.ssa Vittoria Borracci	Psicologa - Borsista Fondazione IRCCS Policlinico
Sig.ra Daniela Da Lisca	Segretaria – Piramide Ricerca Fondazione IRCCS Policlinico
Sig. Marco Milianti	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 Demielinizzanti del Sistema Nervoso Centrale

Nel corso dell'anno 2021 sono giunti all'ambulatorio per le Malattie Demielinizzanti circa 100 nuovi pazienti.

Il numero totale di visite nel corso del 2021 è stato di più di 700 in ambulatori dedicati alla Sclerosi Multipla, attivi tutti i giorni sia al mattino che al pomeriggio, in parte in telemedicina per l'emergenza sanitaria.

È operativo un servizio di “Macro Attività Complessa” (MAC) per consentire ai pazienti di sottoporsi a trattamenti quali la somministrazione di cortisonici ad alto dosaggio e. v. e l'infusione di Immunoglobuline e.v. nonché di effettuare tutte le procedure diagnostiche. Sono stati effettuati 600 ricoveri in regime di MAC.

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

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

Nel corso dell'anno sono giunti all'ambulatorio per la Diagnosi e la Terapia dei Disturbi Cognitivi e della Memoria circa 200 nuovi pazienti. Complessivamente sono state eseguite circa 1200 visite, in ambulatori attivi dal lunedì al venerdì, sia la mattina che il pomeriggio in parte in telemedicina per l'emergenza sanitaria.

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

Dall'ottobre 2000 il Centro è stato riconosciuto da parte della Regione Lombardia come “Unità Valutazione Alzheimer” (U.V.A) ed inserito nel Progetto CRONOS del Ministero della Sanità. Presso tale Centro afferiscono pazienti con sospetto decadimento cognitivo, inviati dal medico di base o dallo specialista, onde essere sottoposti ad un inquadramento diagnostico rivolto alla malattia di Alzheimer e demenze correlate, ai fini dell'inserimento nel progetto CRONOS che prevede l'erogazione gratuita dei nuovi farmaci anticolinesterasici. Ad oggi, risultano al momento registrati per terapia con anticolinesterasici oltre 500 pazienti. Inoltre, alcuni pazienti sono registrati in File F per trattamento con memantina (Ebixa).

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

- esame liquor, IEF per diagnosi di sclerosi multipla: 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 randomised double-blind placebo-controlled clinical trial investigating the effect and safety of oral semaglutide in subjects with early Alzheimer's disease (EVOKE), Novo Nordisk, prot. NN6535-4730

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

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

A placebo-controlled, double-blind, parallel-group, 24-month study to evaluate the efficacy and safety of E2609 in subjects with early Alzheimer's Disease, Eisai, prot BAN 2401-G000-301

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

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

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

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

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

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

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

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

3. ATTIVITÀ DI RICERCA DI BASE

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

- 1) circa 7000 campioni di DNA. Le patologie più rappresentate sono:
 - 800 pazienti con diagnosi di Malattia di Alzheimer
 - 600 con altri tipi di demenza (Degenerazione Lobare Frontotemporale, demenza a corpi di Lewy, demenza vascolare, paralisi sopranucleare progressiva, degenerazione corticobasale)
 - 850 con diagnosi di Sclerosi Multipla
- 2) circa 1150 campioni di liquido cerebrospinale, siero e plasma. Tra questi:
 - 480 pazienti con Sclerosi Multipla
 - 700 con patologie neurodegenerative (prevalentemente malattia di Alzheimer)
- 3) circa 550 cDNA ricavati da RNA estratto da cellule del sangue

Nel corso del 2021 l'attività del gruppo si è articolata sulle seguenti tematiche:

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

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

Dai risultati analizzati con entrambe le metodiche emerge una analoga distribuzione dimensionale delle vescicole totali e di specifica derivazione cellulare. Riguardo invece la concentrazione dai primi dati analizzati si evince una maggiore concentrazione nelle vescicole di derivazione microgliale nei soggetti con MCI e fragilità rispetto ai controlli. Questo avvalorava l'ipotesi di un possibile ruolo delle vescicole di derivazione microgliale nei processi infiammatori o comunque patogenetici che occorrono nelle fasi iniziali del decadimento cognitivo.

Lo studio si è poi focalizzato sul contenuto di RNA in particolare microRNA nelle vescicole isolate nelle diverse condizioni biologiche. Sono stati testati per ogni tipologia di vescicole e per ciascun paziente un totale di 754 miRNA mediante la tecnologia Open Array in Real Time PCR avvalendoci della piattaforma Quantstudio 12K flex system. Tale tecnologia ha permesso di rilevare con 358 miRNA la cui espressione superava i controlli qualità di affidabilità del dato nelle vescicole totali, 251 nelle vescicole di derivazione microgliale e 232 miRNA nelle vescicole di derivazione neuronale. L'analisi statistica ha permesso di evidenziare livelli significativamente più elevati dei miR-223, miR-451, miR-21, e miR-20a nelle vescicole totali dei soggetti AD non fragili rispetto ai controlli. Riguardo invece l'analisi del contenuto dei miRNAs nella sottopopolazione esosomale di derivazione neuronale emerge un aumento generalizzato dell'espressione dei miRNA per tutte le condizioni considerate eccetto che nei controlli non fragili dove prevale una riduzione del livello di espressione dei miRNA in esame. Infine riguardo ai miRNA nelle vescicole di derivazione microgliale si osserva una generalizzata diminuzione dei livelli di espressione nelle differenti condizioni eccetto per gli AD dove predomina una maggiore espressione dei miRNA. Questi sono i dati preliminari di un progetto tuttora incorso e fin qui il lavoro svolto ha permesso di isolare nel plasma e caratterizzare mediante differenti metodiche le vescicole extracellulari di derivazione microgliale oltre a quelle neuronali per le quali il metodo era già stato ottimizzato. E' stato stabilito che tali vescicole hanno caratteristiche di marcatori, morfologia e dimensioni equiparabili a quelle esosomali e che vi sia una tendenza ad un aumento della loro concentrazione nella condizione di MCI associato a fragilità. Non sembra invece delinearsi fino ad ora una signature specifica di mRNA nelle diverse condizioni considerate.

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

Questo studio tuttora in corso ha coinvolto i sieri dei soggetti affetti da FTD e portatori di mutazioni genetiche collezionati negli anni nell'ambito del consorzio GENFI. Questa collaborazione ha permesso così di ottenere i sieri di 443 soggetti portatori di mutazioni in *GRN*, *MAPT* e *C9ORF72* sia asintomatici che sintomatici e soggetti sani non portatori di mutazioni.

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

Ruolo dei miRNA con target sinaptici nelle vescicole di derivazione mieloide nella Sclerosi Multipla

Questo progetto si focalizza sulle vescicole plasmatiche di derivazione mieloide selezionate per il marcatore IB4+.

Il progetto si basa sull'evidenza del considerevole impatto dei deficit cognitivi sulla qualità della vita nei pazienti affetti da Sclerosi Multipla (SM) e sulla evidente assenza di biomarcatori in grado di dello stato cognitivo nella SM. L'ipotesi dello studio è che microRNA con target sinaptici contenuti nelle vescicole di derivazione mieloide possano riflettere i deficit cognitivi. In particolare ci si è focalizzati sull'espressione di 14 miRNAs scelti sulla base della letteratura e delle predizioni bioinformatiche in quanto sono quelli che presentano il maggior numero di target sinaptici. Si sono analizzate coorti di pazienti affetti da SM Italiana e Olandese per un totale di 23 pazienti con anche deficit cognitivi e 25 pazienti cognitivamente integri. Dai risultati ottenuti emerge una significativa maggiore espressione del miR-150-5p ed una significativa ridotta espressione del let-7b-5p nelle vescicole mieloidi dei soggetti SM con deficit cognitivi. Tali molecole presenti nelle vescicole plasmatiche di derivazione mieloide potrebbero rappresentare dei marcatori di deficit cognitivo nella SM.

Ruolo delle espansioni di tipo intermedio situate nel gene *C9ORF72* come possibile fattore di rischio nelle malattie neurodegenerative

Espansioni esanucleotidiche (G4C2) maggiori di 145 ripetizioni nel gene *C9orf72* sono note essere causa di insorgenza di Demenza Frontotemporale e Sclerosi Amiotrofica Laterale sia in casi familiari sia in casi sporadici di malattia. Poco però ancora si conosce sul ruolo che ripetizioni di tipo intermedio (range 9-30) possono avere come fattore rischio.

Nel corso del 2021 il nostro laboratorio si è posto questo quesito, andando a correlare numero di ripetizioni intermedie e fenotipo clinico.

Abbiamo riscontrato un aumento di ripetizioni di tipo intermedio nei soggetti affetti da malattia di Alzheimer, ma anche una correlazione positiva con la presenza di sintomi psichiatrici nelle famiglie dei soggetti analizzati.

Ruolo di α -klotho nella malattia di Alzheimer e nella Demenza Frontotemporale

È noto che la proteina α -klotho esercita un effetto neuroprotettivo nei confronti dello sviluppo del decadimento cognitivo associato a malattie neurodegenerative. Recentemente è stato studiato l'effetto della variante genica denominata "KL-VS" nella malattia di Alzheimer, individuando un ruolo protettivo della variante nello stato di eterozigosi.

Ad oggi però ancora non è stata estesamente studiata la relazione tra genotipo e livelli di espressione della proteina così come non è noto il ruolo della variabilità genetica di *α-klotho* in altri tipi di demenze, come per esempio la Demenza Frontotemporale.

Nel corso del 2021 abbiamo approfondito il ruolo di *α-klotho* effettuando uno studio caso-controllo e uno studio di espressione a livello delle cellule del sangue periferico mettendo in relazione anche lo status genetico con i livelli di espressione genica.

I risultati ottenuti hanno evidenziato che la frequenza del genotipo in eterozigosi non si discosta in maniera significativa nei casi rispetto ai controlli, con una frequenza nei pazienti affetti da malattia di Alzheimer del 23,81%, in soggetti affetti da Demenza Frontotemporale del 24,76% e nei controlli del 25,43% ($P>0,05$). Considerando poi il decadimento cognitivo valutato utilizzando il punteggio del Mini Mental State Examination (MMSE) determinato ad ogni visita, è emerso che il genotipo KL-VShet+ esercita un effetto neuroprotettivo: gli individui eterozigoti per KL-VS mantengono le performance cognitive più a lungo rispetto ai non eterozigoti in entrambi le malattie. Per quanto riguarda l'espressione genica, i controlli mostrano un incremento di espressione di *α-klotho* rispetto ai pazienti. Confrontando gli effetti dello stato KL-VShet+ sull'espressione genica, abbiamo riscontrato un aumento statisticamente significativo dell'espressione genica nei portatori del genotipo KL-VShet+ rispetto ai non portatori nel gruppo dei pazienti affetti da Demenza Frontotemporale.

Ruolo della variabilità genetica in NPC1 e NPC2 in soggetti affetti da demenza con evidenza di deposizione di proteina amiloide

Lo studio si focalizza sul ruolo delle varianti genetiche nei geni già causativi di malattia di Niemann-Pick di tipo C, nelle demenze. In particolare si sono considerati soggetti affetti da demenza con riscontro liquorale di deposizione di proteina β amiloide. Diverse evidenze sperimentali già suggerivano un ruolo di tali geni come fattori disease modifying della malattia di Alzheimer.

Mediante tecnologia di next generation sequencing sono stati sequenziati i geni *NPC1* e *NPC2* in una coorte di 136 soggetti dementi con livelli di proteina β amiloide liquorale bassi e 200 soggetti non affetti da demenza. Dall'analisi di sequenza sono emerse diverse varianti precedentemente associate a patologia NPC ed una nuova variante mai riscontrata prima ed assente in 200 controlli sani. I risultati dimostrano quindi una maggiore frequenza in eterozigosi delle varianti in *NPC1* e *NPC2* nei soggetti affetti da demenza con deposizione di β amiloide rispetto alla popolazione generale.

Ricerca di biomarcatori per lo studio del sistema glinfatico

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

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

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

Lo studio prevede l'analisi di dati e campioni (sangue, feci, urina, saliva e liquido cefalorachidiano solo per pazienti di nuova diagnosi come da pratica clinica) di 30 pazienti arruolati presso il nostro

centro affetti da SM nella forma recidivante-remittente (RR) mai trattati in passato con farmaci immunomodulatori o di nuova diagnosi. Lo studio ha anche un obiettivo secondario, quello di valutare l'impatto della fatica attraverso la somministrazione di differenti questionari auto valutativi di qualità della vita (es: SF-36, FACIT-F).

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

Valutazione atrofia cerebrale mediante utilizzo di scale visive per la diagnostica differenziale tra pazienti con Demenza frontotemporale e pazienti con disturbi psichiatrici ad esordio tardivo

Dallo studio è emerso che i soggetti con demenza frontotemporale hanno maggiore atrofia soprattutto nella regione orbitofrontale sinistra.

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

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

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

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

Lo studio è finalizzato all'identificazione di biomarcatori diagnostici e prognostici per la Demenza Frontotemporale: in particolare verrà valutato il contenuto di vescicole extracellulari di origine neuronale derivanti da pazienti affetti dalla variante comportamentale della demenza frontotemporale. Tale contenuto sarà confrontato con quello di vescicole estratte da pazienti psichiatrici ad esordio tardivo, che talvolta presentano sintomi sovrapponibili, e da controlli non dementi.

Utilizzo di tecniche quantitative di MRI nei pazienti con sclerosi multipla

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

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

PET amiloide e danno della sostanza bianca

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

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

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

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

Tra i primi vi sono:

- Prof. A. Maggi, Centro di Biotecnologie Farmacologiche, Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università di Milano
- Dott. Gianluigi Forloni, Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri, Milano
- Prof. Stefano Cappa, Università di Pavia
- Prof. Alessandro Padovani, Università di Brescia
- Dott.ssa Claudia Verderio CNR institute of Neuroscience, Università Milano-Bicocca
- Prof. Marco Bozzali, Università di Torino
- Dott.sse Roberta Ghidoni e Luisa Benussi, IRCCS Istituto Centro San Giovanni di Dio Fatebenefratelli, Brescia

Tra i centri esteri:

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

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

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

4. PUBBLICAZIONI SU RIVISTE INTERNAZIONALI CENSITE 2021

Gagliardi D, Faravelli I, Podestà MA, Brusa R, Mauri E, Saccomanno D, Di Fonzo A, Bonato S, Scarpini E, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

Sodium Levels Predict Disability at Discharge in Guillain-Barré Syndrome: A Retrospective Cohort Study.

Front Neurol. 2021;12:729252. doi: 10.3389/fneur.2021.729252. IF=4.003

Antolini L, DiFrancesco JC, Zedde M, Basso G, Arighi A, Shima A, Cagnin A, Caulo M, Carare RO, Charidimou A, Cirillo M, Di Lazzaro V, Ferrarese C, Giossi A, Inzitari D, Marcon M, Marconi R, Ihara M, Nitrini R, Orlandi B, Padovani A, Pascarella R, Perini F, Perini G, Sessa M, Scarpini E, Tagliavini F, Valenti R, Vázquez-Costa JF, Villarejo-Galende A, Hagiwara Y, Ziliotto N, Piazza F. *Spontaneous ARIA-like Events in Cerebral Amyloid Angiopathy-Related Inflammation: A Multicenter Prospective Longitudinal Cohort Study.*

Neurology. 2021;97(18):e1809-e1822. doi: 10.1212/WNL.00000000000012778. IF=9.91

Iaffaldano P, Lucisano G, Caputo F, Paolicelli D, Patti F, Zaffaroni M, Brescia Morra V, Pozzilli C, De Luca G, Inglese M, Salemi G, Maniscalco GT, Cocco E, Sola P, Lus G, Conte A, Amato MP, Granella F, Gasperini C, Bellantonio P, Totaro R, Rovaris M, Salvetti M, Torri Clerici VLA, Bergamaschi R, Maimone D, Scarpini E, Capobianco M, Comi G, Filippi M, Trojano M; *Italian MS Register. Long-term disability trajectories in relapsing multiple sclerosis patients treated with early intensive or escalation treatment strategies.*

Ther Adv Neurol Disord. 2021;14:17562864211019574. doi: 10.1177/17562864211019574. IF=6.57

Baroncini D, Simone M, Iaffaldano P, Brescia Morra V, Lanzillo R, Filippi M, Romeo M, Patti F, Chisari CG, Cocco E, Fenu G, Salemi G, Ragonese P, Inglese M, Cellerino M, Margari L, Comi G, Zaffaroni M, Ghezzi A;

Italian MS registry (including Scarpini E). Risk of Persistent Disability in Patients With Pediatric-Onset Multiple Sclerosis.

JAMA Neurol. 2021;78(6):726-735. doi: 10.1001/jamaneurol.2021.1008. IF=18.30

Carandini T, Sacchi L, Ghezzi L, Pietroboni AM, Fenoglio C, Arighi A, Fumagalli GG, De Riz MA, Serpente M, Rotondo E, Scarpini E, Galimberti D.

Detection of the SQSTM1 Mutation in a Patient with Early-Onset Hippocampal Amnestic Syndrome. **J Alzheimers Dis.** 2021;79(2):477-81. doi: 10.3233/JAD-201231 IF=4.47

Malpetti M, Jones PS, Tsvetanov KA, Rittman T, van Swieten JC, Borroni B, Sanchez-Valle R, Moreno F, Laforce R, Graff C, Synofzik M, Galimberti D, Masellis M, Tartaglia MC, Finger E, Vandenberghe R, de Mendonça A, Tagliavini F, Santana I, Ducharme S, Butler CR, Gerhard A, Levin J, Danek A, Otto M, Frisoni GB, Ghidoni R, Sorbi S, Heller C, Todd EG, Bocchetta M, Cash DM, Convery RS, Peakman G, Moore KM, Rohrer JD, Kievit RA, Rowe JB, *Genetic Ftd Initiative Genfi. Apathy in presymptomatic genetic frontotemporal dementia predicts cognitive decline and is driven by structural brain changes.*

Alzheimers Dement. 2021;17(6):969-83. doi: 10.1002/alz.12252. IF= 21.566

van Waalwijk van Doorn LJC, Ghafoorian M, van Leijssen EMC, Claassen JAHR, Arighi A, Bozzali M, Cannas J, Cavedo E, Eusebi P, Farotti L, Fenoglio C, Fortea J, Frisoni GB, Galimberti D, Greco V, Herukka SK, Liu Y, Lleó A, de Mendonça A, Nobili FM, Parnetti L, Picco A, Pikkarainen M, Salvadori N, Scarpini E, Soininen H, Tarducci R, Urbani A, Vilaplana E, Meulenbroek O, Platel B, Verbeek MM, Kuiperij HB.

White Matter Hyperintensities are No Major Confounder for Alzheimer's Disease Cerebrospinal Fluid Biomarkers.

J Alzheimers Dis. 2021;79(1):163-75. doi: 10.3233/JAD-200496 IF=4.47

Tsvetanov KA, Gazzina S, Jones PS, van Swieten J, Borroni B, Sanchez-Valle R, Moreno F, Laforce R Jr, Graff C, Synofzik M, Galimberti D, Masellis M, Tartaglia MC, Finger E, Vandenberghe R, de Mendonça A, Tagliavini F, Santana I, Ducharme S, Butler C, Gerhard A, Danek A, Levin J, Otto M, Frisoni G, Ghidoni R, Sorbi S, Rohrer JD, Rowe JB;

Genetic FTD Initiative, GENFI. Brain functional network integrity sustains cognitive function despite atrophy in presymptomatic genetic frontotemporal dementia.

Alzheimers Dement. 2021;17(3):500-14. doi: 10.1002/alz.12209 IF=21.566

Canevelli M, Arisi I, Bacigalupo I, Arighi A, Galimberti D, Vanacore N, D'Onofrio M, Cesari M, Bruno G;

Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Biomarkers and phenotypic expression in Alzheimer's disease: exploring the contribution of frailty in the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative.
Geroscience 2021;43(2):1039-51. doi: 10.1007/s11357-020-00293-y IF= 7.11

Swift IJ, Sogorb-Esteve A, Heller C, Synofzik M, Otto M, Graff C, Galimberti D, Todd E, Heslegrave AJ, van der Ende EL, Van Swieten JC, Zetterberg H, Rohrer JD.

Fluid biomarkers in frontotemporal dementia: past, present and future.

J Neurol Neurosurg Psychiatry 2021;92(2):204-15. doi: 10.1136/jnnp-2020-323520 IF=10.15

Conte M, Sabbatinelli J, Chiariello A, Martucci M, Santoro A, Monti D, Arcaro M, Galimberti D, Scarpini E, Bonfigli AR, Giuliani A, Olivieri F, Franceschi C, Salvioli S.

Disease-specific plasma levels of mitokines FGF21, GDF15, and Humanin in type II diabetes and Alzheimer's disease in comparison with healthy aging.

Geroscience 2021;43(2):985-1001. doi: 10.1007/s11357-020-00287-w IF=7.11

Borrego-Écija S, Sala-Llonch R, van Swieten J, Borroni B, Moreno F, Masellis M, Tartaglia C, Graff C, Galimberti D, Laforce R Jr, Rowe JB, Finger E, Vandenberghe R, Tagliavini F, de Mendonça A, Santana I, Synofzik M, Ducharme S, Levin J, Danek A, Gerhard A, Otto M, Butler C, Frisoni G, Sorbi S, Heller C, Bocchetta M, Cash DM, Convery RS, Moore KM, Rohrer JD, Sanchez-Valle R; *Genetic FTD Initiative GENFI. Disease-related cortical thinning in presymptomatic granulin mutation carriers.*

Neuroimage Clin. 2021; 29:102540. doi: 10.1016/j.nicl.2020.102540 IF=4.88

Benussi A, Premi E, Gazzina S, Brattini C, Bonomi E, Alberici A, Jiskoot L, van Swieten JC, Sanchez-Valle R, Moreno F, Laforce R, Graff C, Synofzik M, Galimberti D, Masellis M, Tartaglia C, Rowe JB, Finger E, Vandenberghe R, de Mendonça A, Tagliavini F, Santana I, Ducharme S, Butler CR, Gerhard A, Levin J, Danek A, Otto M, Frisoni G, Ghidoni R, Sorbi S, Le Ber I, Pasquier F, Peakman G, Todd E, Bocchetta M, Rohrer JD, Borroni B; Genetic FTD Initiative (GENFI). *Progression of Behavioral Disturbances and Neuropsychiatric Symptoms in Patients With Genetic Frontotemporal Dementia.*

JAMA Netw Open. 2021;4(1):e2030194. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2020.30194 IF=8.81

Poos JM, Russell LL, Peakman G, Bocchetta M, Greaves CV, Jiskoot LC, van der Ende EL, Seelaar H, Papma JM, van den Berg E, Pijnenburg YAL, Borroni B, Sanchez-Valle R, Moreno F, Laforce R, Graff C, Synofzik M, Galimberti D, Rowe JB, Masellis M, Tartaglia C, Finger E, Vandenberghe R, de Medonça A, Tagliavini F, Butler CR, Santana I, Ber IL, Gerhard A, Ducharme S, Levin J, Danek A, Otto M, Sorbi S, Pasquier F, van Swieten JC, Rohrer JD;

Genetic FTD Initiative, GENFI. Impairment of episodic memory in genetic frontotemporal dementia: A GENFI study.

Alzheimers Dement (Amst). 2021;13(1):e12185. IF=21.56

Serpente M, Fenoglio C, Arighi A, Fumagalli GG, Arcaro M, Sorrentino F, Visconte C, Scarpini E, Galimberti D.

Analysis of C9orf72 Intermediate Alleles in a Retrospective Cohort of Neurological Patients: Risk Factors for Alzheimer's Disease?

J Alzheimers Dis. 2021;81(4):1445-51. doi: 10.3233/JAD-210249. IF=4.47

Bocchetta M, Todd EG, Peakman G, Cash DM, Convery RS, Russell LL, Thomas DL, Iglesias JE, van Swieten JC, Jiskoot LC, Seelaar H, Borroni B, 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 CR, Ducharme S, Gerhard A, Danek A, Levin J, Otto M, Sorbi S, Le Ber I, Pasquier F, Rohrer JD;
Genetic Frontotemporal dementia Initiative (GENFI). Differential early subcortical involvement in genetic FTD within the GENFI cohort.

Neuroimage Clin. 2021;30:102646. doi:10.1016/j.nicl.2021.102646 IF=4.88

Rojas JC, Wang P, Staffaroni AM, Heller C, Cobigo Y, Wolf A, Goh SM, Ljubenkova PA, Heuer HW, Fong JC, Taylor JB, Veras E, Song L, Jeromin A, Hanlon D, Yu L, Khinikar A, Sivasankaran R, Kieloch A, Valentin MA, Karydas AM, Mitic LL, Pearlman R, Kornak J, Kramer JH, Miller BL, Kantarci K, Knopman DS, Graff-Radford N, Petrucelli L, Rademakers R, Irwin DJ, Grossman M, Ramos EM, Coppola G, Mendez MF, Bordelon Y, Dickerson BC, Ghoshal N, Huey ED, Mackenzie IR, Appleby BS, Domoto-Reilly K, Hsiung GR, Toga AW, Weintraub S, Kaufer DI, Kerwin D, Litvan I, Onyike CU, Pantelyat A, Roberson ED, Tartaglia MC, Foroud T, Chen W, Czerkowiec J, Graham DL, van Swieten JC, Borroni B, Sanchez-Valle R, Moreno F, Laforce R, Graff C, Synofzik M, Galimberti D, Rowe JB, Masellis M, Finger E, Vandenberghe R, de Mendonça A, Tagliavini F, Santana I, Ducharme S, Butler CR, Gerhard A, Levin J, Danek A, Otto M, Sorbi S, Cash DM, Convery RS, Bocchetta M, Foiani M, Greaves CV, Peakman G, Russell L, Swift I, Todd E, Rohrer JD, Boeve BF, Rosen HJ, Boxer AL; ALLFTD and GENFI consortia.

Plasma Neurofilament Light for Prediction of Disease Progression in Familial Frontotemporal Lobar Degeneration.

Neurology 2021;96(18):e2296-e2312. doi:10.1212/WNL.00000000000011848 IF=9.91

Carandini T, Cercignani M, Galimberti D, Scarpini E, Bozzali M.

The distinct roles of monoamines in multiple sclerosis: A bridge between the immune and nervous systems?

Brain Behav Immun. 2021;94:381-91. doi: 10.1016/j.bbi.2021.02.030 IF=7.21

Reus LM, Pasaniuc B, Posthuma D, Boltz T; International FTD-Genomics Consortium (including Galimberti D), Pijnenburg YAL, Ophoff RA.

Gene Expression Imputation Across Multiple Tissue Types Provides Insight Into the Genetic Architecture of Frontotemporal Dementia and Its Clinical Subtypes.

Biol Psychiatry 2021;89(8):825-35. IF=13.38

Carandini T, Mancini M, Bogdan I, Rae CL, Barritt AW, Sethi A, Harrison N, Rashid W, Scarpini E, Galimberti D, Bozzali M, Cercignani M.

Disruption of brainstem monoaminergic fibre tracts in multiple sclerosis as a putative mechanism for cognitive fatigue: a fixel-based analysis.

Neuroimage Clin. 2021;30:102587. doi: 10.1016/j.nicl.2021.102587 F=4.88

Pozzato M, Micaglio E, Starvaggi Cucuzza C, Cagol A, Galimberti D, Calandrella D, Cinnante C, Pappone C, Zanussi M, Meola G, Scarpini E, Bresolin N, Martinelli Boneschi F.

Case Report: Efficacy of Rituximab in a Patient With Familial Mediterranean Fever and Multiple Sclerosis.

Front Neurol. 2021;11:591395. IF=4.003

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;16(5):1247-52. doi: 10.1007/s11739-021-02634-x. IF=3.397

Sacchi L, Rotondo E, Pozzoli S, Fiorentini A, Schinco G, Mandelli C, Coppola C, Fumagalli GG, Carandini T, Pietroboni AM, Galimberti D, Triulzi F, Marotta G, Scarpini E, Cesari M, Brambilla P, Arighi A.

Diogenes syndrome in dementia: a case report.

BJPsych Open 2021;7(2):e43. IF= 3.19

Arighi A, Fumagalli GG, Carandini T, Pietroboni AM, De Riz MA, Galimberti D, Scarpini E.

Facing the digital divide into a dementia clinic during COVID-19 pandemic: caregiver age matters.

Neurol Sci. 2021;42(4):1247-1251. IF= 3.307

Panman JL, Venkatraghavan V, van der Ende EL, Steketee RME, Jiskoot LC, Poos JM, Doppler EGP, Meeter LHH, Donker Kaat L, Rombouts SARB, Vernooij MW, Kievit AJA, Premi E, Cosseddu M, Bonomi E, Olives J, Rohrer JD, Sánchez-Valle R, Borroni B, Bron EE, Van Swieten JC, Papma JM, Klein S; GENFI consortium investigators (including Galimberti D, Scarpini E).

Modelling the cascade of biomarker changes in GRN-related frontotemporal dementia.

J Neurol Neurosurg Psychiatry 2021;92(5):494-501. doi: 10.1136/jnnp-2020-323541 IF= 10.154

D'Anca M, Fenoglio C, Buccellato FR, Visconte C, Galimberti D, Scarpini E.

Extracellular Vesicles in Multiple Sclerosis: Role in the Pathogenesis and Potential Usefulness as Biomarkers and Therapeutic Tools.

Cells 2021;10(7):1733. doi: 10.3390/cells10071733. IF=4.33

Franklin HD, Russell LL, Peakman G, Greaves CV, Bocchetta M, Nicholas J, Poos J, Convery RS, Cash DM, van Swieten J, Jiskoot L, Moreno F, Sanchez-Valle R, Borroni B, Laforce R Jr, Masellis M, Tartaglia MC, Graff C, Galimberti D, Rowe JB, Finger E, Synofzik M, Vandenberghe R, de Mendonça A, Tagliavini F, Santana I, Ducharme S, Butler C, Gerhard A, Levin J, Danek A, Otto M, Sorbi S, Le Ber I, Pasquier F, Rohrer JD;

Genetic FTD Initiative, GENFI. The Revised Self-Monitoring Scale detects early impairment of social cognition in genetic frontotemporal dementia within the GENFI cohort.

Alzheimers Res Ther. 2021;13(1):127. doi: 10.1186/s13195-021-00865-w. 4 IF=6.98

Carandini T, Sacchi L, Bovis F, Azzimonti M, Bozzali M, Galimberti D, Scarpini E, Pietroboni AM. *Distinct patterns of MRI lesions in MOG antibody disease and AQP4 NMOSD: a systematic review and meta-analysis.*

Mult Scler Relat Disord. 2021;54:103118. doi: 10.1016/j.msard.2021.103118. IF=4.33

Gallucci M, Mazzarolo AP, Focella L, Berlin E, Fiore V, Di Paola F, Bendini M, Zanusso G, Fenoglio C, Galimberti D, Bonanni L.

More Atypical than Atypical Alzheimer's Disease Phenotypes: A Treviso Dementia (TREDEM) Registry Case Report.

J Alzheimers Dis Rep. 2021;5(1):365-374. doi: 10.3233/ADR-210009. IF= 4.472

Young AL, Bocchetta M, Russell LL, Convery RS, Peakman G, Todd E, Cash DM, Greaves CV, van Swieten J, Jiskoot L, Seelaar H, Moreno F, Sanchez-Valle R, Borroni B, Laforce R Jr, Masellis M, Tartaglia MC, Graff C, Galimberti D, Rowe JB, Finger E, Synofzik M, Vandenberghe R, de Mendonça A, Tagliavini F, Santana I, Ducharme S, Butler C, Gerhard A, Levin J, Danek A, Otto M, Sorbi S, Williams SC, Alexander DC, Rohrer JD;

Genetic FTD Initiative (GENFI). Characterizing the Clinical Features and Atrophy Patterns of MAPT-Related Frontotemporal Dementia With Disease Progression Modeling.

Neurology 2021;97(9):e941-e952. doi: 10.1212/WNL.0000000000012410. IF= 9.91

Ashton NJ, Janelidze S, Al Khleifat A, Leuzy A, van der Ende EL, Karikari TK, Benedet AL, Pascoal TA, Lleó A, Parnetti L, Galimberti D, Bonanni L, Pilotto A, Padovani A, Lycke J,

Novakova L, Axelsson M, Velayudhan L, Rabinovici GD, Miller B, Pariente C, Nikkheslat N, Resnick SM, Thambisetty M, Schöll M, Fernández-Eulate G, Gil-Bea FJ, López de Munain A, Al-Chalabi A, Rosa-Neto P, Strydom A, Svenningsson P, Stomrud E, Santillo A, Aarsland D, van Swieten JC, Palmqvist S, Zetterberg H, Blennow K, Hye A, Hansson O.

A multicentre validation study of the diagnostic value of plasma neurofilament light.

Nat Commun. 2021;12(1):3400. doi: 10.1038/s41467-021-23620-z. IF= 14.919

de Rojas I, Moreno-Grau S, Tesi N, Grenier-Boley B, Andrade V, Jansen IE, Pedersen NL, Stringa N, Zettergren A, Hernández I, Montreal L, Antúnez C, Antonell A, Tankard RM, Bis JC, Sims R, Bellenguez C, Quintela I, González-Perez A, Calero M, Franco-Macías E, Macías J, Blesa R, Cervera-Carles L, Menéndez-González M, Frank-García A, Royo JL, Moreno F, Huerto Vilas R, Baquero M, Diez-Fairen M, Lage C, García-Madróna S, García-González P, Alarcón-Martín E, Valero S, Sotolongo-Grau O, Ullgren A, Naj AC, Lemstra AW, Benaque A, Pérez-Cordón A, Benussi A, Rábano A, Padovani A, Squassina A, de Mendonça A, Arias Pastor A, Kok AAL, Meggy A, Pastor AB, Espinosa A, Corma-Gómez A, Martín Montes A, Sanabria Á, DeStefano AL, Schneider A, Haapasalo A, Kinhult Ståhlbom A, Tybjærg-Hansen A, Hartmann AM, Spottke A, Corbatón-Anchuelo A, Rongve A, Borroni B, Arosio B, Nacmias B, Nordestgaard BG, Kunkle BW, Charbonnier C, Abdelnour C, Masullo C, Martínez Rodríguez C, Muñoz-Fernandez C, Dufouil C, Graff C, Ferreira CB, Chillotti C, Reynolds CA, Fenoglio C, Van Broeckhoven C, Clark C, Pisanu C, Satizabal CL, Holmes C, Buiza-Rueda D, Aarsland D, Rujescu D, Alcolea D, Galimberti D, Wallon D, Seripa D, Grünblatt E, Dardiotis E, Düzel E, Scarpini E, Conti E, Rubino E, Gelpi E, Rodriguez-Rodriguez E, Duron E, Boerwinkle E, Ferri E, Tagliavini F, Küçükali F, Pasquier F, Sanchez-Garcia F, Mangialasche F, Jessen F, Nicolas G, Selbæk G, Ortega G, Chêne G, Hadjigeorgiou G, Rossi G, Spalletta G, Giaccone G, Grande G, Binetti G, Papenberg G, Hampel H, Bailly H, Zetterberg H, Soininen H, Karlsson IK, Alvarez I, Appollonio I, Giegling I, Skoog I, Saltvedt I, Rainero I, Rosas Allende I, Hort J, Diehl-Schmid J, Van Dongen J, Vidal JS, Lehtisalo J, Wiltfang J, Thomassen JQ, Kornhuber J, Haines JL, Vogelgsang J, Pineda JA, Fortea J, Popp J, Deckert J, Buerger K, Morgan K, Fließbach K, Sleegers K, Molina-Porcel L, Kilander L, Weinhold L, Farrer LA, Wang LS, Kleinedam L, Farotti L, Parnetti L, Tremolizzo L, Hausner L, Benussi L, Froelich L, Ikram MA, Deniz-Naranjo MC, Tsolaki M, Rosende-Roca M, Löwenmark M, Hulsman M, Spallazzi M, Pericak-Vance MA, Esiri M, Bernal Sánchez-Arjona M, Dalmaso MC, Martínez-Larrad MT, Arcaro M, Nöthen MM, Fernández-Fuertes M, Dichgans M, Ingelsson M, Herrmann MJ, Scherer M, Vyhnaek M, Kosmidis MH, Yannakoulia M, Schmid M, Ewers M, Heneka MT, Wagner M, Scamosci M, Kivipelto M, Hiltunen M, Zulaica M, Alegret M, Fornage M, Roberto N, van Schoor NM, Seidu NM, Banaj N, Armstrong NJ, Scarmeas N, Scherbaum N, Goldhardt O, Hanon O, Peters O, Skrobot OA, Quenez O, Lerch O, Bossù P, Caffarra P, Dionigi Rossi P, Sakka P, Hoffmann P, Holmans PA, Fischer P, Riederer P, Yang Q, Marshall R, Kalaria RN, Mayeux R, Vandenberghe R, Cecchetti R, Ghidoni R, Frikke-Schmidt R, Sorbi S, Hägg S, Engelborghs S, Helisalmi S, Botne Sando S, Kern S, Archetti S, Boschi S, Fostinelli S, Gil S, Mendoza S, Mead S, Ciccone S, Djurovic S, Heilmann-Heimbach S, Riedel-Heller S, Kuulasmaa T, Del Ser T, Lebouvier T, Polak T, Ngandu T, Grimmer T, Bessi V, Escott-Price V, Giedraitis V, Deramecourt V, Maier W, Jian X, Pijnenburg YAL; EADB contributors; GR@ACE study group; DEGESCO consortium; IGAP (ADGC, CHARGE, EADI, GERAD); PGC-ALZ consortia, Kehoe PG, Garcia-Ribas G, Sánchez-Juan P, Pastor P, Pérez-Tur J, Piñol-Ripoll G, Lopez de Munain A, García-Alberca JM, Bullido MJ, Álvarez V, Lleó A, Real LM, Mir P, Medina M, Scheltens P, Holstege H, Marquié M, Sáez ME, Carracedo Á, Amouyel P, Schellenberg GD, Williams J, Seshadri S, van Duijn CM, Mather KA, Sánchez-Valle R, Serrano-Ríos M, Orellana A, Tárraga L, Blennow K, Huisman M, Andreassen OA, Posthuma D, Clarimón J, Boada M, van der Flier WM, Ramirez A, Lambert JC, van der Lee SJ, Ruiz A.

Common variants in Alzheimer's disease and risk stratification by polygenic risk scores.

Nat Commun. 2021;12(1):3417. doi: 10.1038/s41467-021-22491-8. IF=14.91

Bergström S, Öijerstedt L, Remnestål J, Olofsson J, Ullgren A, Seelaar H, van Swieten JC, Synofzik M, Sanchez-Valle R, Moreno F, Finger E, Masellis M, Tartaglia C, Vandenberghe R, Laforce R, Galimberti D, Borroni B, Butler CR, Gerhard A, Ducharme S, Rohrer JD, Månberg A, Graff C, Nilsson P;

Genetic Frontotemporal Dementia Initiative (GENFI). A panel of CSF proteins separates genetic frontotemporal dementia from presymptomatic mutation carriers: a GENFI study.

Mol Neurodegener. 2021;16(1):79. doi: 10.1186/s13024-021-00499-4. IF= 14.195

La Rosa F, Mancuso R, Agostini S, Piancone F, Marventano I, Saresella M, Hernis A, Fenoglio C, Galimberti D, Scarpini E, Clerici M.

Pharmacological and Epigenetic Regulators of NLRP3 Inflammasome Activation in Alzheimer's Disease.

Pharmaceuticals (Basel). 2021;14(11):1187. doi: 10.3390/ph14111187. IF= 5.85

de Boer SCM, Riedl L, van der Lee SJ, Otto M, Anderl-Straub S, Landin-Romero R, Sorrentino F, Fieldhouse JLP, Reus LM, Vacaflor B, Halliday G, Galimberti D, Diehl-Schmid J, Ducharme S, Piguet O, Pijnenburg YAL.

Differences in Sex Distribution Between Genetic and Sporadic Frontotemporal Dementia.

J Alzheimers Dis. 2021;84(3):1153-1161. doi: 10.3233/JAD-210688. IF=4.86

Premi E, Giunta M, Iraj A, Rachakonda S, Calhoun VD, Gazzina S, Benussi A, Gasparotti R, Archetti S, Bocchetta M, Cash D, Todd E, Peakman G, Convery R, van Swieten JC, Jiskoot L, Sanchez-Valle R, Moreno F, Laforce R, Graff C, Synofzik M, Galimberti D, Rowe JB, Masellis M, Tartaglia C, Finger E, Vandenberghe R, de Mendonça A, Tagliavini F, Butler CR, Santana I, Gerhard A, Le Ber I, Pasquier F, Ducharme S, Levin J, Danek A, Sorbi S, Otto M, Rohrer JD, Borroni B; *Genetic Frontotemporal dementia Initiative (GENFI). Dissemination in time and space in presymptomatic granulin mutation carriers: a GENFI spatial chronnectome study.*

Neurobiol Aging. 2021;108:155-67. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2021.09.001. IF= 4.67

Buccellato FR, D'Anca M, Fenoglio C, Scarpini E, Galimberti D.

Role of Oxidative Damage in Alzheimer's Disease and Neurodegeneration: From Pathogenic Mechanisms to Biomarker Discovery.

Antioxidants (Basel). 2021;10(9):1353. doi: 10.3390/antiox10091353. IF= 6.649

Carandini T, Mancini M, Bogdan I, Rae CL, Barritt AW, Clerico M, Sethi A, Harrison N, Rashid W, Scarpini E, Galimberti D, Bozzali M, Cercignani M.

In vivo evidence of functional disconnection between brainstem monoaminergic nuclei and brain networks in multiple sclerosis.

Mult Scler Relat Disord. 2021;56:103224. doi: 10.1016/j.msard.2021.103224. IF= 4.33

Sorrentino F, Arighi A, Serpente M, Arosio B, Arcaro M, Visconte C, Rotondo E, Vimercati R, Ferri E, Fumagalli GG, Pietroboni AM, Carandini T, Scarpini E, Fenoglio C, Galimberti D.

Niemann-Pick Type C 1 (NPC1) and NPC2 Gene Variability in Demented Patients with Evidence of Brain Amyloid Deposition.

J Alzheimers Dis. 2021;83(3):1313-1323. doi: 10.3233/JAD-210453. IF=4.67

COVID-19 Host Genetics Initiative (Including Galimberti D, Scarpini E). Mapping the human genetic architecture of COVID-19.

Nature 2021;600(7889):472-7. doi: 10.1038/s41586-021-03767-x. IF= 49.962

Lualdi M, Shafique A, Pedrini E, Pieroni L, Greco V, Castagnola M, Cucina G, Corrado L, Di Pierro A, De Marchi F, Camillo L, Colombrita C, D'Anca M, Alberio T, D'Alfonso S, Fasano M.

C9ORF72 Repeat Expansion Affects the Proteome of Primary Skin Fibroblasts in ALS.
Int J Mol Sci. 2021;22(19):10385. doi: 10.3390/ijms221910385 IF=5.924

Cercignani M, Dipasquale O, Bogdan I, Carandini T, Scott J, Rashid W, Sabri O, Hesse S, Rullmann M, Lopiano L, Veronese M, Martins D, Bozzali M.

Cognitive fatigue in multiple sclerosis is associated with alterations in the functional connectivity of monoamine circuits.

Brain Commun. 2021 Mar 5;3(2):fcab023. doi: 10.1093/braincomms/fcab023.

IFtotale=383,10

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"
- Dott. A. Arighi - Editor della rivista Journal of Alzheimer's disease

6. MEMBERSHIP SOCIETÀ SCIENTIFICHE

- Prof. E. Scarpini - socio fondatore e membro del Consiglio Direttivo dell'Associazione per la ricerca sulle demenze della Società Italiana di Neurologia (SINDEM)
- 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 Società Italiana di Biologia e Genetica

7. MEMBERSHIP ASSEGNAZIONE GRANTS

- 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)
- Dott.ssa D. Galimberti - chair commissione JPND

8. FINANZIAMENTI

- Fondazione Gigi e Pupa Ferrari Onlus 10.000 nel 2021 - UniMi - finanziamento totale E 30.000 (2021-2023)
- Ricerca Finalizzata 2018 Ministero della Salute: "Healthy versus pathological aging: role of exosome-derived non coding RNA and inflammatory transcripts in frailty and dementia" - RF-2018-12365333 - coPI - E 446826,43 (2019-2023)
- 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 94.049
- Ricerca Finalizzata Giovani Ricercatori 2019 Ministero della Salute: “DISsecting Behavioral variant frontotemporal dementia AND bipolar disorder: an integrated epigenetic-neuroimaging approach (DISBAND)”. GR-2019-12369100 – E 450.000 (2021-2024)

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

Dott. Mattia Tosi

Dott. Alessandro Di Maio

Dott. Vidal Yahya

BIOLOGI:

Dr.ssa Manuela Magni

Dott. Fabio Biella

STUDY COORDINATOR:

Paolo Varuzza

Nel corso dell'anno 2021 le attività del gruppo di ricerca dedicato alla malattia di Parkinson ed altri disturbi del movimento si sono focalizzate sulle sperimentazioni di nuove terapie per la malattia di Parkinson e per l'Atrofia Multisistemica, e sulla ricerca di base dei meccanismi molecolari genetici e cellulari mirati sottostanti i disordini del movimento.

L'attività clinico assistenziale e di ricerca sono significativamente implementate, nonostante il persistere dell'emergenza COVID. E' stato rinnovato il sostegno da parte della Fresco Institute Center of Excellence, che sostiene le attività di ricerca a assistenziale di due persone del team di ricerca, la Dr.ssa Franco e il Dr. Di Maio, che nel corso del 2022 si sono dedicati a studi sull'idrocefalo normoteso, atassie e disturbi del movimento rari. Il 2022 ha visto il rientro da New York del Dott. Emanuele Frattini e del dr. Edoardo Monfrini. Il dr. Frattini ha completato la Fresco Clinical Fellowship presso il Langone NYU Hospital ed è rientrato a Milano per effettuare il secondo anno della Fellowship. Il Dr. Monfrini ha passato 6 mesi presso la NYU grazie alla vincita del Flubright Program nel 2021, rientrando a dicembre per proseguire la sua intensa attività di ricerca nell'ambito della neurogenetica.

Altri due ambiti di ricerca clinica sono stati condotti dal team, in particolare dalla dr.ssa Arienti che ha coordinato uno studio nazionale multicentrico sulla familiarità nella malattia di Parkinson, e dalla dr.ssa Lazzeri che ha collaborato con il gruppo di internisti specializzati nello studio della disautonomia per studiare gli aspetti disautonomici della malattia di Parkinson e della MSA.

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 AIFA che studia la differenza di genere nei pazienti affetti da Malattia di Parkinson in relazione all'introduzione in terapia di Levodopa.

A febbraio 2021 si è conclusa 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. È stato condotto e concluso la 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. Infine, tutto il 2021 ha visto il completamento dello 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 tremori. 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.

Si sono raggiunti importanti traguardi nello studio degli aspetti genetici delle distonie, che hanno portato a diverse pubblicazioni su riviste eccellenti nell'ambito della neurologia (Brain e Annals of Neurology). Anche gli studi sugli aspetti genetici della malattia di Parkinson hanno avuto grande risonanza nel 2021, grazie collaborazione d'istituti a carattere nazionale e internazionale, con lo scopo di individuare nuove mutazioni genetiche sia nelle forme giovanili sia in quelle adulte della malattia, e di consentire una migliore caratterizzazione dei fenotipi associati a determinati fattori di rischio genetico. Il responsabile del team ha coordinato il gruppo di genetica del progetto PARKENT2 delle reti IRCCS.

Sono stati portati avanti gli ambiziosi progetti di studio della patogenesi della malattia di Parkinson, particolare su mutazioni GBA (dr. Frattini) e Parkin (dr.ssa Trezzi) e dell'Atrofia Multisistemica e distonie rare (Manuela Magni e Fabio Biella) in modelli cellulari di neuroni, oligodendrociti e

organoidi cerebrali generati a partire da cellule staminali pluripotenti indotte di pazienti affetti e controlli.

Lavori scientifici

Bargar C, De Luca CMG, Devigili G, Elia AE, Cilia R, Portaleone SM, Wang W, Tramacere I, Bistaffa E, Cazzaniga FA, Felisati G, Legname G, Di Fonzo A, Xu R, Gunzler SA, Giaccone G, Eleopra R, Chen SG, Moda F.

Discrimination of MSA-P and MSA-C by RT-QuIC analysis of olfactory mucosa: the first assessment of assay reproducibility between two specialized laboratories.

Mol Neurodegener. 2021 Dec 11;16(1):82. doi: 10.1186/s13024-021-00491-y. PMID: 34895275; PMCID: PMC8665327.

Monfrini E, Spagnolo F, Canesi M, Seresini A, Rini A, Passarella B, Percetti M, Seia M, Goldwurm S, Cereda V, Comi GP, Pezzoli G, Di Fonzo A. VPS13C-associated Parkinson's disease: Two novel cases and review of the literature.

Parkinsonism Relat Disord. 2022 Jan;94:37-39. doi: 10.1016/j.parkreldis.2021.11.031. Epub 2021 Dec 1. PMID: 34875562.

Franco G, Lazzeri G, Di Fonzo A.

Parkinsonism and ataxia.

J Neurol Sci. 2022 Feb 15;433:120020. doi: 10.1016/j.jns.2021.120020. Epub 2021 Oct 1. PMID: 34711421.

Khan S, Fu P, Di Fonzo A, Marasca I, Secundo F.

Enhanced whole-cell biotransformation of 3-chloropropiophenone into 1-phenyl-1-propanone by hydrogel entrapped Chlorella emersonii (211.8b).

Biotechnol Lett. 2021 Dec;43(12):2259-2272. doi: 10.1007/s10529-021-03194-y. Epub 2021 Oct 19. PMID: 34665367.

Riboldi GM, Frattini E, Monfrini E, Frucht SJ, Di Fonzo A. A Practical Approach to Early-Onset Parkinsonism. *J Parkinsons Dis.* 2022;12(1):1-26. doi: 10.3233/JPD-212815. PMID: 34569973.

Gagliardi D, Faravelli I, Podestà MA, Brusa R, Mauri E, Saccomanno D, Di Fonzo A, Bonato S, Scarpini E, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

Sodium Levels Predict Disability at Discharge in Guillain-Barré Syndrome: A Retrospective Cohort Study.

Front Neurol. 2021 Sep 7;12:729252. doi: 10.3389/fneur.2021.729252. PMID: 34557155; PMCID: PMC8453067.

Montinaro BL, Bozzano V, Carandina A, Croci GA, Di Fonzo A, Tobaldini E.

A 79-year-old man with unexplained recurrent syncope and severe orthostatic hypotension.

Intern Emerg Med. 2021 Sep 15:1–6. doi: 10.1007/s11739-021-02832-7. Epub ahead of print. PMID: 34528166; PMCID: PMC8442640.

Manini A, Straniero L, Monfrini E, Percetti M, Vizziello M, Franco G, Rimoldi V, Zecchinelli A, Pezzoli G, Corti S, Comi GP, Duga S, Di Fonzo A.

Screening of LRP10 mutations in Parkinson's disease patients from Italy.

Parkinsonism Relat Disord. 2021 Aug;89:17-21. doi: 10.1016/j.parkreldis.2021.06.014. Epub 2021 Jun 19. PMID: 34216936.

Benussi A, Cantoni V, Manes M, Libri I, Dell'Era V, Datta A, Thomas C, Ferrari C, Di Fonzo A, Fancellu R, Grassi M, Brusco A, Alberici A, Borroni B.

Motor and cognitive outcomes of cerebello-spinal stimulation in neurodegenerative ataxia.

Brain. 2021 Sep 4;144(8):2310-2321. doi: 10.1093/brain/awab157. PMID: 33950222.

Monfrini E, Zech M, Steel D, Kurian MA, Winkelmann J, Di Fonzo A.

HOPS-associated neurological disorders (HOPSANDs): linking endolysosomal dysfunction to the pathogenesis of dystonia.

Brain. 2021 Oct 22;144(9):2610-2615. doi: 10.1093/brain/awab161. PMID: 33871597.

Carandina A, Lazzeri G, Villa D, Di Fonzo A, Bonato S, Montano N, Tobaldini E.

Targeting the Autonomic Nervous System for Risk Stratification, Outcome Prediction and Neuromodulation in Ischemic Stroke.

Int J Mol Sci. 2021 Feb 26;22(5):2357. doi: 10.3390/ijms22052357. PMID: 33652990; PMCID: PMC7956667.

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 Aug;16(5):1247-1252. doi: 10.1007/s11739-021-02634-x.

Epub 2021 Feb 10. PMID: 33565035; PMCID: PMC7872881.

Falla M, Di Fonzo A, Hicks AA, Pramstaller PP, Fabbrini G.

Genetic variants in levodopa-induced dyskinesia (LID): A systematic review and meta-analysis.

Parkinsonism Relat Disord. 2021 Mar;84:52-60. doi: 10.1016/j.parkreldis.2021.01.020. Epub 2021 Jan 31. PMID: 33561612.

Arienti F, Lazzeri G, Vizziello M, Monfrini E, Bresolin N, Saetti MC, Picillo M, Franco G, Di Fonzo A.

Unravelling Genetic Factors Underlying Corticobasal Syndrome: A Systematic Review.

Cells. 2021 Jan 15;10(1):171. doi: 10.3390/cells10010171. PMID: 33467748; PMCID: PMC7830591.

Monfrini E, Cogiamanian F, Salani S, Straniero L, Fagiolari G, Garbellini M, Carsana E, Borellini L, Biella F, Moggio M, Bresolin N, Corti S, Duga S, Comi GP, Aureli M, Di Fonzo A.

A Novel Homozygous VPS11 Variant May Cause Generalized Dystonia.

Ann Neurol. 2021 Apr;89(4):834-839. doi: 10.1002/ana.26021. Epub 2021 Feb 2. PMID: 33452836; PMCID: PMC8048445.

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. 2021 Mar;28(3):e25-e27. doi: 10.1111/ene.14679. Epub 2020 Dec 30. PMID: 33314449.

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, Ghoumid 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. Epub 2020 Oct 7. PMID: 33029936.

Ardolino G, Bocci T, Nigro M, Vergari M, Di Fonzo A, Bonato S, Cogiamanian F, Cortese F, Cova I, Barbieri S, Priori A.

Spinal direct current stimulation (tsDCS) in hereditary spastic paraplegias (HSP): A sham-controlled crossover study.

J Spinal Cord Med. 2021 Jan;44(1):46-53. doi: 10.1080/10790268.2018.1543926. Epub 2018 Dec 3. PMID: 30508408; PMCID: PMC7919872.

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, ricercatore RTDA a tempo determinato dell'Università degli Studi di

Milano

Mariella Legato

biologa con borsa annuale ospedaliera

Luana Tripodi

dottoranda in Medicina Traslationale 36° ciclo

Nefele Giarratana

biotecnologa con borsa annuale ospedaliera

Sabrina Leotta

biotecnologa con borsa annuale ospedaliera

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

Claudia Crescimanna

studentessa della facoltà di biotecnologie del farmaco, tirocinante per tesi magistrale dei 5 anni

Stefan Bencina

studente della facoltà di biologia applicata alla ricerca biomedica, tirocinante per tesi magistrale dei 5 anni

Ivanna Honcharyuk

studentessa della facoltà di biologia applicata alla scienza della alimentazione, tirocinante per tesi magistrale dei 5 anni

Carolina Mella

studente della facoltà di biologia applicata alla ricerca
biomedica, tirocinante per tesi magistrale dei 5 anni

Giada Mainieri

studentessa della facoltà di biologia applicata alla
ricerca biomedica, tirocinante per tesi magistrale dei 5
anni

Consuntivo dell'attività di ricerca svolta nel corso dell'anno 2021 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 2021 il gruppo di lavoro diretto dal professor Torrente ha proseguito e approfondito la propria attività di ricerca nell'ambito delle patologie neuromuscolari ed in particolare della distrofia muscolare di Duchenne (DMD), patologia ancora oggi priva di cure risolutive.

Anche quest'anno i progetti di ricerca del Laboratorio del Prof. Torrente hanno sviluppato due filoni sperimentali che riguardano temi quali il ruolo del sistema immunitario nelle distrofie muscolari e nanotecnologie applicate a patologie neurodegenerative.

Ruolo dell'immunità nelle distrofie muscolari

La distrofia muscolare è una rara malattia genetica causata da una mutazione nel gene della distrofina, proteina di ancoraggio che connette il citoscheletro di una fibra muscolare alla matrice extracellulare circostante attraverso la membrana cellulare.

L'assenza di distrofina rende le fibre muscolari fragili e ne causa la rottura durante la normale contrazione. Il danno muscolare crea un flusso anomalo, con sostanze fondamentali per la funzionalità del muscolo in uscita e sostanze dannose, come il calcio, in entrata. Questo processo, oltre alla distruzione delle fibre muscolari, scatena la reazione delle cellule del sistema immunitario e porta all'invasione del muscolo da parte delle cellule infiammatorie, nel tentativo di riparare il danno. In questo ambito quest'anno il gruppo di ricerca diretto dal prof. Torrente ha pubblicato, sulla prestigiosa rivista scientifica internazionale "**Nature Communications**", un lavoro sperimentale in cui viene dimostrato una disregolazione dei linfociti T a livello del timo di modelli murini di DMD, il topo mdx, dove l'assenza della proteina distrofina nel timo determina una disorganizzazione tissutale che impatta nell'espressione di proteine coinvolte nella maturazione dei linfociti T e nell'immuno-tolleranza. Queste alterazioni partecipano allo sviluppo di infiammazione, fibrosi ed atrofia muscolare, caratteristiche istologiche del muscolo distrofico, con conseguente perdita di forza muscolare. Le alterazioni tissutali presenti nel timo distrofico si riflettono infatti nell'infiltrazione muscolare da parte di linfociti che, attraverso il rilascio di sostanze infiammatorie, attivano dei segnali cellulari capaci di modulare l'espressione genica nel muscolo, causando riduzione della massa muscolare, alterato metabolismo, deposito di collagene e perdita di forza muscolare. Queste evidenze sottolineano il ruolo determinante svolto dal sistema immunitario nella patogenesi della DMD offrendo la possibilità ai ricercatori di identificare nuovi target terapeutici per questa grave patologia.

Il Prof. Torrente insieme al suo gruppo di ricerca quest'anno ha pubblicato, sulla rivista scientifica "**Biomedicines**", un altro studio in cui descrive i progressi più recenti nella conoscenza del coinvolgimento del sistema immunitario nella patogenesi della DMD. In questo modo si aprono nuove importanti opportunità dal punto di vista clinico, offrendo ai ricercatori e ai clinici la possibilità di indagare nuovi trattamenti farmacologici volti a controllare la non corretta attivazione del sistema immunitario dei soggetti affetti da distrofia muscolare. Le distrofie muscolari e le miopatie infiammatorie sono disturbi muscolari eterogenei caratterizzati da progressiva debolezza muscolare e perdita di massa. Nonostante l'elevata variabilità dell'eziologia, infiammazione e coinvolgimento della risposta immunitaria innata e adattiva sono caratteristiche comuni a queste patologie. I meccanismi immunitari coinvolti in queste malattie includono l'attivazione della cascata del complemento, gli autoanticorpi diretti contro proteine muscolari o antigeni de-novo espressi nelle miofibre, la sovraespressione di MHC-I (complesso maggiore di istocompatibilità) nelle miofibre e citotossicità mediata dai linfociti.

La somministrazione di immunoglobuline (IVIG) per via endovenosa potrebbe rappresentare un immunomodulatore adatto. In un lavoro pubblicato nel 2021 sulla rivista scientifica "**Frontiers in Immunology**" i ricercatori coordinati dal prof. Torrente riportano gli studi più significativi in cui vengono descritti i meccanismi d'azione di immunoglobuline somministrate per via endovenosa in soggetti affetti da distrofia muscolare (distrofinopatie, distrofia muscolare di Duchenne, distrofia

miotonica), da miopatie infiammatorie, da dermatomiositi, polimiositi . Vengono riportati i risultati di evidenze precliniche e di case report.

Il futuro della terapia con IVIG si basa su una migliore comprensione del meccanismo del trattamento delle IVIG e sulla possibilità di ingegnerizzare la preparazione di IVIG per consentire interventi immunoterapici mirati in combinazione con sforzi terapeutici basati sul tipo di mutazione e per potenziarne le proprietà regolatorie.

Nanotecnologie applicate a patologie neurodegenerative

L'ataxia di Friedreich (FRDA) è una malattia neurodegenerativa ereditaria, per lo più caratterizzata da ataxia progressiva dell'andatura e degli arti, disartria, disfagia, disfunzione oculomotoria, perdita dei riflessi tendinei profondi.

La FRDA è causata dall'espansione instabile di una tripletta GAA situata nell'introne 1 del gene FXN (9q21.11), che codifica la proteina mitocondriale frataxina (FXN). La funzione di questa proteina non è ancora nota, ma si ipotizza che svolga un ruolo nella biogenesi dei cluster ferro-zolfo. Un deficit di questa proteina causa il progressivo deterioramento del sistema nervoso centrale e periferico. Tra i sintomi non neurologici vi sono una cardiomiopatia progressiva con aritmie connesse e il diabete. La lunghezza dell'allele più corto correla inversamente con l'età di esordio della patologia e con il tempo che intercorre tra l'esordio e la dipendenza dalla sedia a rotelle, mentre correla positivamente con la prevalenza della cardiomiopatia. Non esiste una terapia risolutiva per la FRDA, il quadro sintomatologico viene oggi trattato in maniera multidisciplinare; per questo nel mondo della ricerca c'è un grande interesse per riuscire ad individuare un trattamento in grado di rallentare la progressione della malattia e migliorare le condizioni di vita dei pazienti. E' noto dalla letteratura che la frataxina è importante per il corretto funzionamento mitocondriale e ha un ruolo fondamentale nell'omeostasi del ferro a livello intracellulare. La mancanza di FXN determina una maggiore esposizione allo stress ossidativo con un conseguente accumulo di metalli ed una ridotta attività della catena respiratoria mitocondriale. Questo processo aumenta la generazione di radicali liberi provocando la morte delle cellule neuronali e la neurodegenerazione attraverso meccanismi differenti. I tessuti neurali e il cuore sono suscettibili allo stress ossidativo, e un accumulo di ferro è stato osservato nella maggior parte dei tessuti dei modelli animali e dei pazienti con FRDA. Il gruppo di lavoro coordinato dal prof. Torrente quest'anno ha pubblicato, sulla rivista internazionale di eccellenza "**Sciences Translational Medicine**", un lavoro nato da una collaborazione tra gruppi di ricerca afferenti all'**Università di Milano- Bicocca**, all'**Università di Torino** e all'**Università di Miami**.

In questo studio è stato dimostrato che la somministrazione di nanoparticelle di atomi di oro comporta una riduzione del danno ossidativo e un miglioramento della funzionalità mitocondriale sia su cellule mesenchimali ottenute dal midollo di soggetti affetti da FRDA che in modelli murini della FRDA (topi YG8R).

I risultati hanno permesso di identificare un miglioramento significativo delle funzioni neuromotorie e cardiache dei modelli YG8R diversi mesi dopo una singola somministrazione di nanoparticelle. Questo studio rappresenta un'importante scoperta che apre la strada a nuovi studi sulla FRDA e allo sviluppo di nuovi farmaci in grado di avere un effetto benefico di lunga durata per il trattamento delle malattie neurodegenerative.

Negli ultimi anni le scienze biomediche hanno riconosciuto il ruolo determinante che ricoprono le nanotecnologie in diversi campi grazie allo sviluppo e all'uso di nanoparticelle in teranostica, un concetto innovativo in medicina che prevede la combinazione di diagnostica e terapia permette di fornire al medico un trattamento ottimale e individuale del paziente già dalle prime fasi della malattia. Questa tecnica consente un'indagine più approfondita dei processi biologici, diagnosi più rapida delle malattie, monitoraggio accurato di tessuti o organi danneggiati e, soprattutto, il miglioramento di alcuni trattamenti terapeutici tradizionali. La terapia fotodinamica (PDT) ad esempio è un approccio promettente per trattare il cancro utilizzando l'azione dell'ossigeno molecolare. I fotosensibilizzanti sono molecole che inducono una modifica chimica in un'altra

molecola quando assorbono luce. In questo ambito il gruppo di ricerca del prof. Torrente ha pubblicato sulla rivista scientifica **“Applied materials & Interface”** uno studio frutto della collaborazione con il gruppo di ricerca dell’Università Bicocca diretto da Angelo Monguzzi. In questo lavoro viene dimostrata la capacità di nanotubi di crisotilo con sulla superficie cromofori coniugati di aumentare la produzione di ossigeno in una soluzione acquosa sotto irraggiamento di raggi X. L’efficacia come coadiuvanti per la radioterapia è stata testata in vitro, dimostrando una sorprendente efficacia perché in grado di potenziare sia la citotossicità immediata della radiazione ionizzante che la citotossicità a lungo termine data dalle radiazioni attivate. In particolare, l’attività benefica è elevata a bassi livelli di composto, paragonabili a quella osservata nei trattamenti clinici standard. Questo apre importanti possibilità terapeutiche, basti pensare al trattamento di alcuni tumori e alla possibilità di diminuire efficacemente l’esposizione alla radioterapia e di conseguenza ridurre gli effetti collaterali dovuti all’esposizione prolungata dei pazienti a radiazioni ad alta energia.

Linee di ricerca nate da collaborazioni nazionali e internazionali

Durante il 2021 è proseguita la 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, al fine di sviluppare progetti tecnologici per realizzare modelli computazionali da utilizzare nell’analisi dei risultati sperimentali e nella previsione dei comportamenti cellulari e biomeccanici dei tessuti. Questa collaborazione ha permesso al gruppo di ricerca diretto dal prof. Torrente di pubblicare sulla rivista scientifica internazionale **“Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials”** uno studio che descrive un modello matematico tridimensionale chemo-meccanico del muscolo scheletrico distrofico. Il modello descritto 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 nei 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 seguito a nuove terapie.

La collaborazione 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, è proseguita anche quest’anno. Tale collaborazione, nata al fine di approfondire lo studio dei fenomeni degenerativi legati all’invecchiamento muscolare, ha portato il gruppo del prof. Torrente a pubblicare i risultati ottenuti dallo studio di una miopatia miofibrillare causata da mutazione del gene BAG3 sulla prestigiosa rivista scientifica **“Autophagy”**. In questo studio è stato generato un modello di zebrafish che esprime transitoriamente la mutazione BAG3^{P209L} 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^{-/-}. Pertanto, l’utilizzo della metformina potrebbe rappresentare un elemento promettente per la terapia della miopatia miofibrillare.

La duratura collaborazione 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 è proseguita anche nel 2021 ed ha permesso la pubblicazione di due diversi lavori. Sulla rivista scientifica “International Journal of Molecular Sciences” è stato pubblicato uno studio in cui viene approfondito il processo di formazione di nuove giunzioni neuromuscolari durante la rigenerazione muscolare, processo complesso che richiede ancora ulteriori indagini. In questo lavoro mediante single-cell RNA sequencing i ricercatori hanno identificato un sottogruppo di cellule associate ai vasi, presenti nel tessuto muscolare e cardiaco, in grado di migliorare il differenziamento miogenico. Queste cellule, caratterizzate dalla presenza di marcatori di superficie quali CD44 e CD34 e dall'espressione di Ng2 e Ncam2, vengono definite “guida” per la loro capacità di migliorare la miogenesi senza fondersi con le nuove fibre. In vitro, infatti, questa popolazione cellulare ha mostrato una spiccata mobilità e capacità di entrare in contatto con i miotubi in formazione, incrementando il differenziamento miogenico della linea cellulare murina C2C12 e di mesangioblasti cardiaci H4ven. Inoltre, nello studio si dimostra che l'iniezione di queste cellule “guida” in un modello murino di lesione muscolare acuta e rigenerazione correla con un incremento del numero di giunzioni neuromuscolari di nuova formazione.

Sono necessari ulteriori studi per indagare l'origine di queste cellule e per capire perché siano necessarie per la formazione delle miofibre in rigenerazione.

Inoltre dalla suddetta collaborazione è stata realizzata una review, pubblicata sulla rivista **“Frontiers in Genetics”** con l'obiettivo di raccogliere tutte le informazioni presenti in letteratura in merito al trapianto di cellule muscolari quale trattamento per patologie del muscolo scheletrico congenite e acquisite. Gli autori mettono a confronto la stessa strategia utilizzata in differenti patologie al fine di definire similitudini e differenze nella fonte cellulare, nei modelli pre-clinici capire quali problemi hanno limitato il successo del trapianto di cellule in ambito muscolare soprattutto se paragonato ai risultati ottenuti con il trapianto di cellule epiteliali.

In collaborazione con il gruppo di ricerca diretto da Pierluigi Mauri dell'Unità di Proteomica e Metabolomica, Istituto di Tecnologie Biomediche, Consiglio Nazionale delle Ricerche ITB-CNR, il gruppo di lavoro diretto dal prof. Torrente ha pubblicato sulla rivista scientifica **“Molecules”** uno studio che combina il frazionamento proteico da vescicole extracellulari isolate da campioni di urina, e analisi di proteomica al fine di stabilire se diversi patterns di impedenza respiratoria in bambini sani in età prescolare possono essere caratterizzati da un fingerprint proteomico. Dal lavoro emerge che sono necessari ulteriori studi per incrementare il numero di soggetti analizzati e capire il ruolo di particolari proteine nella valutazione di cambiamenti fisiologici nella funzione polmonare durante l'infanzia.

Durante quest'anno il prof. Torrente e il suo gruppo di lavoro hanno proseguito lo studio per approfondire le conoscenze in ambito di patologie neuromuscolari quali la distrofia muscolare dei cingoli 2E (LGMD 2E), recentemente rinominata come distrofia muscolare dei cingoli autosomica recessiva 4 (LGMDR4), e caratterizzata da mancanza di beta-sarcoglicano, normalmente espresso nei muscoli scheletrici e nei cardiomiociti. La ricerca clinica ha portato alla pubblicazione di uno studio sulla rivista scientifica internazionale **“Frontiers in Neurology”**. E' stato condotto uno studio retrospettivo della storia clinica di 26 pazienti affetti da LGMDR4 partendo dall'ipotesi che l'insufficienza respiratoria e ventricolare (LV) progressiva in pazienti affetti da LGMDR4 potrebbe essere associata all'età e a fenomeni correlati alla storia della malattia. L'obiettivo principale di tale studio era mettere a confronto i livelli di progressione della malattia analizzando i valori della creatinfosfochinasi (cpk), misure del test di funzionalità polmonare (PFT) e stime ecocardiografiche e di mettere questi dati in relazione con l'età dei pazienti stessi. Gli autori hanno osservato che i tassi di declino/anno delle stime della funzione CPK, PFT e VS sono significativamente legati all'età e la frazione di eiezione LV (EF) è la variabile indipendente, la cui variabilità maggiormente descrive la progressione della malattia. Inoltre, lo studio sottolinea come il tasso di declino di CPK, PFT e LV era diverso nei pazienti raggruppati in base alle loro mutazioni genetiche, dimostrando una possibile correlazione genotipo-fenotipo. Questo studio estende le attuali conoscenze

sull'andamento della funzione muscolare, respiratoria e cardiaca nei pazienti affetti da LGMDR4, al fine di ottimizzare il monitoraggio di questi pazienti, migliorarne la loro qualità di vita e fornire indici clinici in grado di quantificare in modo oggettivo gli effetti di qualsiasi nuova terapia genica o farmacologica.

Quest'anno il gruppo di ricerca ha proseguito lo studio iniziato qualche anno fa in merito alla supplementazione dietologica e di come una supplementazione dietologica corretta possa potenziare le prestazioni muscolari, migliorando anche lo stesso fenotipo distrofico. I prodotti nutraceutici hanno proprietà farmacologiche antiinfiammatorie, antiaritmiche, cardiotoniche, antiossidanti che possono prevenire o rallentare il danno da stress ossidativo. Sulla base di queste evidenze il gruppo di ricerca diretto dal prof. Torrente qualche anno fa aveva pubblicato un lavoro in cui descriveva uno studio clinico monocentrico, condotto in doppio cieco, randomizzato (numero di registrazione del trial: NCT03317171) atto alla valutazione degli effetti a livello muscolare di una miscela di polifenoli e acidi grassi (FLAVOMEGA) somministrata a pazienti affetti da distrofia muscolare di Duchenne (DMD), distrofia facio-scapolo-omerale (FSHD) e distrofia dei cingoli (LGMD). Lo scopo di questo studio era quello di verificare le potenzialità antiossidanti ed antiinfiammatorie del suddetto integratore FLAVOMEGA costituito da una miscela di acidi grassi omega-3 (O-3FA), fosfolipidi, curcumina, acetil carnitina-l-HCL, coenzima Q10 (CoQ10), Scutellaria baicalensis Georgi baicalein, epicatechine di tè verde (Camellia sinensis) e altri micronutrienti importanti nel contesto della distrofia muscolare, patologia muscolare caratterizzata da infiammazione e stress ossidativo. I risultati infatti avevano dimostrato che, sebbene il ridotto numero di pazienti reclutati e l'ampia varietà del grado di gravità e di compromissione dei pazienti avesse inciso riducendo la significatività statistica, erano stati ottenuti un profilo ottimale di sicurezza e tollerabilità per il composto, mostrando dati preziosi di efficacia. Questo trattamento potrebbe quindi rappresentare una strategia terapeutica alternativa per i pazienti distrofici che non rispondono al trattamento con corticosteroidi, farmaci a cui sono correlati numerosi effetti collaterali. Ulteriori studi quest'anno hanno permesso al gruppo del prof. Torrente di pubblicare, sulla rivista scientifica **“Cells”**, uno studio in cui è stata descritta una miscela di nutraceutici chiamata FLAVOMEGA β , una versione migliorata sviluppata a partire da FLAVOMEGA. Sono stati selezionati i composti con il più alto ruolo benefico tra quelli presenti in FLAVOMEGA, vale a dire O-3FA, curcumina fosfolipidica, CoQ10, baicaleina, epicatechine del tè verde, la dose di ciascun componente è stata ottimizzata ed è stata aggiunta aloe vera. In letteratura, questi integratori sono già stati descritti e proposti come trattamento dietologico che regola il livello dei metaboliti, diminuisce i radicali liberi, attiva enzimi antiossidanti e modula la funzione della catena respiratoria mitocondriale con un'alta produzione di energia. L'aloe vera è ricca di vitamine, minerali, zuccheri, aminoacidi, acidi grassi e ormoni e possiede molteplici effetti benefiche, che vanno da proprietà antibatteriche e attività antivirali ad effetti analgesici, antinfiammatori e antiossidanti. Nonostante la continua innovazione terapeutica attraverso numerosi studi clinici, ad oggi non esiste un trattamento efficace per la patologia DMD, tuttavia, la somministrazione di integratori alimentari costituisce un approccio promettente per supportare la gestione dei sintomi della DMD. In quest'ultimo lavoro gli autori dimostrano l'efficacia di FLAVOMEGA β nel trattamento del modello animale di distrofia muscolare, il topo mdx mostrando un potenziale ruolo di questo integratore nello stimolare la proliferazione, la miogenicità, il rimodellamento vascolare e lo switch metabolico ossidativo delle miofibre. Gli integratori alimentari possono quindi essere utili per il mantenimento di un adeguato apporto di nutrienti, per migliorare le prestazioni fisiche di soggetti sani, in caso di carenze nutrizionali e rappresentano uno strumento adiuvante per la gestione di molteplici condizioni patologiche. Sulla base dei risultati analizzati infatti gli autori ne propongono l'utilizzo come supplementazione dietologica per migliorare la qualità vita e il fenotipo patologico dei pazienti DMD.

Da molti anni il prof. Torrente collabora con numerosi colleghi impegnati in attività di ricerca di base e ricerca clinica all'interno dell'Università degli Studi di Milano e/o convenzionati con la Fondazione IRCCS Ca' Grande Ospedale Maggiore di Milano; in particolare, durante il 2021, la sinergia di diverse competenze cliniche, ha permesso la pubblicazione, sulla rivista **“Journal of**

american Accademy of Psychiatry and the Law”, di uno studio in cui viene analizzato il caso di omicidio di Benjamin Reynaud del 1861, un uomo le cui caratteristiche cliniche suggeriscono la diagnosi di variante comportamentale della demenza frontotemporale (bvFTD). Il comportamento criminale è una caratteristica clinica della variante comportamentale della demenza frontotemporale. Le alterazioni a carico della regione orbito-basale del lobo frontale determinano modificazioni del comportamento sociale e della personalità. I pazienti diventano impulsivi e perdono le inibizioni sociali, presentano un’alterazione della personalità, del comportamento e, di solito, del linguaggio. Il loro comportamento spesso è socialmente inappropriato e commettono reati minori (come taccheggio, violazioni legate alla guida, effrazione, sconfinamento) fino ad arrivare ad essere accusati di atti più estremi come reati sessuali e violenza. Gli autori sottolineano che nessun caso di omicidio che coinvolga bvFTD è ben illustrato in letteratura, gli studi scientifici disponibili riportano solo poche annotazioni aneddotiche su bvFTD e omicidio. All’epoca il caso di Reynaud venne descritto come un generico caso di demenza senile e questo lo ha fatto includere nella sezione delle malattie organiche piuttosto che psichiatriche. Gli autori rianalizzando l’anormale comportamento di Reynaud concludono che in esso si possono riconoscere alcuni chiari elementi a favore della possibile bvFTD. In primo luogo, ha avuto un importante cambiamento di personalità (criterio I-A per bvFTD) caratterizzato da un comportamento socialmente disinibito (vale a dire perdita di decoro; criterio II-A per bvFTD). Il caso di Reynaud può rappresentare un raro caso di omicidio commesso da un individuo con bvFTD e fornisce uno spunto interessante per alcune riflessioni in merito al rapporto tra comportamento omicida e bvFTD.

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 quest’anno è anche Membro della Commissione Scientifica TACT (TREAT-NMD Advisory Committee for Therapeutics).

Infine nel 2021 il prof. Torrente, ha continuato la sua attività didattica presso l’Università degli Studi di Milano quale docente del V anno di Medicina e della scuola di specializzazione in Neurologia e per la lezione “Cellule staminali e medicina rigenerativa” all’interno del Master di Farmacologia Oncologica del 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 qualche 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

Andrea Farini¹, Clementina Sitzia,, Chiara Villa, Barbara Cassani, Luana Tripodi, Mariella Legato, Marzia Belicchi, Pamela Bella, Caterina Lonati, Stefano Gatti, Massimiliano Cerletti & Yvan Torrente

Defective dystrophic thymus determines degenerative changes in skeletal muscle

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

Nature Communications 1-20 2021 **I.F.: 14.919**

Luana Tripodi, Chiara Villa, Davide Molinaro, Yvan Torrente and Andrea Farini

The Immune System in Duchenne Muscular Dystrophy Pathogenesis

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

Biomedicines 9, 1447 4 October 2021 **I.F.: 5.612**

Role of Immunoglobulins in Muscular Dystrophies and Inflammatory Myopathies

Andrea Farini, Chiara Villa, Luana Tripodi, Mariella Legato and Yvan Torrente

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

Frontiers In Immunology July 2021 | Volume 12 | Article 666879 **I.F.: 7.561**

Chiara Villa, Mariella Legato, Alessandro Umbach, Chiara Riganti, Rebecca Jones, Beatrice Martini, Marina Boido, Claudio Medana, Irene Facchinetti, Dario Barni, Milena Pinto, Tania Arguello, Marzia Belicchi, Gigliola Fagiolari, Carla Liaci, Maurizio Moggio, Riccardo Ruffo, Carlos T. Moraes, Angelo Monguzzi, Giorgio R. Merlo, Yvan Torrente

Treatment with ROS detoxifying gold quantum clusters alleviates the functional decline in a mouse model of Friedreich ataxia

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

Science Translational Medicine 13, 1633 (2021) 18 August 2021 **I.F.: 17.956**

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.: 16.016**

Olivier Boyer, Gillian Butler-Browne, Hector Chinoy, Giulio Cossu, Francesco Galli, James B. Lilleker, Alessandro Magli, Vincent Mouly, Rita C. R. Perlingeiro, Stefano C. Previtali, Maurilio Sampaolesi, Hubert Smeets, Verena Schoewel-Wolf6, Simone Spuler, Yvan Torrente, Florence Van Tienen and Study Group

Myogenic Cell Transplantation in Genetic and Acquired Diseases of Skeletal Muscle

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

Frontiers In Genetics August 2021 | Volume 12 | Article 702547 **I.F.: 4.27**

Stefano Zago, Cristina Scarpazza, Teresa Difonzo, Andrea Arighi, Dounia Hajhajate, Yvan Torrente, and Giuseppe Sartori

Behavioral Variant of Frontotemporal Dementia and Homicide in a Historical Case

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

American Academy of Psychiatry And The Law Volume 49, Number 2, 2021 **I.F.: 0.57**

Luana Tripodi, Davide Molinaro, Andrea Farini, Gendenver Cadiao, Chiara Villa and Yvan Torrente

Flavonoids and Omega3 Prevent Muscle and Cardiac Damage in Duchenne Muscular Dystrophy Animal Model

Cells 2021, 10, 2917. **I.F.:** 4.326

Giulia Bruna Marchetti, Luca Valenti and Yvan Torrente

Clinical Determinants of Disease Progression in Patients With Beta-Sarcoglycan Gene Mutations

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

Frontiers In Neurology July 2021 | Volume 12 | Article 657949 **I.F.:** 3.552

Marco Stefanati, Yvan Torrente, José Félix Rodriguez 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.:** 3.93

Irene Villa, Chiara Villa, Roberta Crapanzano, Valeria Secchi, Massimo Tawfilas, Elena Trombetta, Laura Porretti, Andrea Brambilla, Marcello Campione, Yvan Torrente, Anna Vedda, and Angelo Monguzzi

Functionalized Scintillating Nanotubes for Simultaneous Radio- and Photodynamic Therapy of Cancer

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;

Acs Applied Materials & Interfaces 2021, 13, 12997–13008. **I.F.:** 9.229

Flavio L. Ronzoni, Nefele Giarratana, Stefania Crippa, Mattia Quattrocchi, Marco Cassano, Gabriele Ceccarelli, Laura Benedetti, Jens Van Herck, Maria G. Cusella De Angelis, Marco Vitale, Daniela Galli, and Maurilio Sampaoli

Guide Cells Support Muscle Regeneration and Affect Neuro-Muscular Junction Organization

International Journal of Molecular Sciences. Sci. 2021, 22, 1939 **I.F.:** 5.542

Giuliana Ferrante, Rossana Rossi, Giovanna Cilluffo, Dario Di Silvestre, Andrea Brambilla, Antonella De Palma, Chiara Villa, Velia Malizia, Rosalia Gagliardo, Yvan Torrente, Giovanni Corsello, Giovanni Vieg, Pierluigi Mauri, and Stefania La Grutta

Shotgun Proteomics of Isolated Urinary Extracellular Vesicles for Investigating Respiratory Impedance in Healthy Preschoolers

Molecules 2021, 26, 1258. **I.F.:** 4.148

ELENCO DEI PROGETTI DI RICERCA FINANZIATI ED ANCORA IN CORSO

“3D modelling of neuromuscular unit to discover pathogenetic mechanisms and therapeutics for motor neuron diseases”. Bando interno Fondazione Patrimonio e dalla Direzione Scientifica Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico. Co-PI. Finanziamento: 200.000,00 €.

“Piattaforme cellulari per la Ricerca e lo Sviluppo di Terapie Avanzate in Life Science” - Fondo Europeo di Sviluppo Regionale 2014-2020. POR FESR 2014-2020, Ricerca Innovazione. 2021. PI. Finanziamento: 500.000,00€.

AFM-TELTHON “Novel satellite cell heterogeneity in healthy and pathological regeneration”. Co-PI Finanziamento: 100.000,00€.

“Engineered T cells (CAR-T) for the treatment of cardiac fibrosis in Duchenne Muscular Dystrophy” - SG-2019-12368961, Ricerca Finalizzata, 2019. PI Finanziamento: 425.000,00€.

“Una rete per terapie geniche e cellulari per malattie devastanti” (acronimo: PLAGENCELL) – Bando per il finanziamento di Progetti di Rete II Edizione – Fondazione Regionale per la Ricerca Biomedica, Regione Lombardia, 2019. Co-PI Finanziamento: 450.000,00€.

“Gene therapy for alpha-dystroglycan muscular dystrophy (MDC1C). Trattamento delle distrofie congenite da difetto di glicosilazione dell’alfa-distroglicano mediante l’uso autologo di piastrine” – Fondazione Opsi Onlus, 2018. PI Finanziamento: 125.000,00€.

“IRMI – Creazione di una infrastruttura multiregionale (Italian Regenerative Medicine Infrastructure) per lo sviluppo delle terapie avanzate finalizzate alla rigenerazione d’organi e tessuti” - Ministero dell’Istruzione, dell’Università e della Ricerca (MIUR), 2017. PI Finanziamento: 207.845,00€.

“Multimodal nanotracking for exosome-based therapy in DMD” (Rif. RF-2016-02362263), - Ricerca Finalizzata 2016 (Linea di ricerca: “Theory-enhancing”), 2017. PI Finanziamento: 625.000,00 €.

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: 35.000,00€.

ELENCO COLLABORAZIONI INTERNAZIONALI E NAZIONALI DEL LABORATORIO CELLULE STAMINALI

Prof. Yvan Torrente

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

- **Giuseppe Perale**, I.B.I. S/A, Svizzera, Dipartimento di Chimica, Materiali e Ingegneria Chimica "Giulio Natta" Sezione Chimica Fisica Applicata, Politecnico di Milano, Milano
- **Roberto Maggi**, Professore universitario di seconda fascia Fisiologia, Facoltà di Farmacia, Università degli Studi di Milano
- **Mario Pellegrino**, Prof. Associato presso il Dipartimento di Ricerca Traslationale e delle Nuove Tecnologie in Medicina e Chirurgia, Università di Pisa
- **Daniele Cusi**, Professore di Nefrologia, Università degli Studi di Milano
- **Cristina Barlassina**, Dipartimento di Medicina, Chirurgia e Odontoiatria, Università degli Studi di Milano
- **Anna Spada**, U.O. di Endocrinologia e Diabetologia, Dipartimento di Scienze Mediche, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico
- **Irene Cettin**, Direttore UO Complessa di Ostetricia e Ginecologia, Direttore Centro di Ricerche Fetalì Giorgio Pardi, Università degli Studi di Milano - Polo Universitario Ospedale L.Sacco di Milano
- **Paola Rossi**, Professore universitario per il settore scientifico disciplinare BIOO9 (Fisiologia Generale) presso il Dipartimento di Scienze Fisiologiche e Farmacologiche cellulari e molecolari- Sezione di Fisiologia dell'Università di Pavia.
- **Angelo Poletti**, Biologia Applicata, Università degli Studi di Milano, Facoltà di Farmacia, Università degli studi di Milano
- **Silvio Biccato**, 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 SanMartino-IST, Genova, Italy
- **Francesco Meinardi**, Professore di Fisica della Materia, l'Università di Milano Bicocca
- **Jose F Rodriguez-Matas-**, Associate professor, LabS (www.labsmech.polimi.it) Chemistry, Materials and Chemical Engineering Department "Giulio Natta" Politecnico di Milano, Italy
- **Giorgio Roberto Merlo**, Dipartimento di Biotechnologie 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. Pierluigi Mauri** – Istituto di Tecnologie Biomediche, Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR-ITB), Milano
- **Prof.ssa M.G. Bruzzone** – UOC Neuroradiologia, Istituto Neurologico Besta, Milan, Italy
- **Prof. Simone Guglielmetti** - Dipartimento di Scienze per gli Alimenti, la Nutrizione e l'Ambiente, Università degli Studi di Milano, Milano

- **Prof. Umberto Galderisi** – Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università degli Studi della Campania "Luigi Vanvitelli"
- **D.ssa Barbara Cassani** – Istituto di Genetica e Biomedicina (IRGB), National Research Council (CNR) Milano
- **Prof. Sabrina Sacconi** – Nice University Hospital, Nice, France
- **Mattia Quattrocchi** – Cincinnati Children's Hospital Medical Center, Department of Pediatrics, Heart Institute, University of Cincinnati College of Medicine and Molecular Cardiovascular Biology Division, Cincinnati, OH 45229, USA

U.O.S. STROKE UNIT

Responsabile:

Dott. ssa Sara Bonato

Medici:

Dott.ssa Isabella Ghione

Dott.ssa Silvia Lanfranconi

Nel corso dell'anno 2021, 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 sono stati utilizzati nell'ambito di alcuni progetti di ricerca riguardanti la sicurezza e l'efficacia delle procedure di rivascolarizzazione in fase acuta in sottogruppi specifici.

1) Terapia in acuto dell'ictus ischemico lieve

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

Nei pazienti con NIHSS < 6 , attraverso modelli di regressione logistica (univariata e multivariata), è stata valutata e quantificata l'associazione tra l'intervento terapeutico in acuto e la presenza di complicanze emorragiche intracraniche.

I risultati di questo studio sono stati descritti in una pubblicazione attualmente sottomesso alla rivista Stroke.

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

Classicamente il trattamento con trombolisi endovenosa in pazienti con ictus ischemico acuto può essere somministrato entro le 4.5 ore dall'esordio dei sintomi, mentre il trattamento di trombectomia meccanica entro le 6 ore. Maggiore è il tempo trascorso dall'esordio dei sintomi e 1) maggiore è il tessuto andato incontro a ischemia non reversibile (core ischemico) e 2) minore è il

tessuto ipossico salvabile (penombra ischemica). Le tecniche avanzate di neuroimaging, come gli studi di perfusione, sono state recentemente impiegate in acuto per individuare pazienti con tessuto cerebrale salvabile anche oltre le classiche finestre temporali. Se vengono soddisfatti alcuni stringenti criteri neuroradiologici legati a parametri derivanti da studi di perfusione, si può intervenire con la trombosi 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.

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

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

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

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

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

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

Un'altra area d'interesse del gruppo Stroke è rappresentata dalle cause rare di patologia cerebrovascolare. Nel 2021 abbiamo studiato e caratterizzato alcuni casi:

a) un caso di stroke del circolo posteriore in un adolescente di 15 anni con lesione ischemica pontina acuta e un'anomalia focale intraluminale sulla parete posteriore dell'arteria basilare. Tale caso è oggetto di un case report che verrà sottomesso a breve.

b) Nell'ambito degli studi relativi alle reazioni avverse da vaccino anti- SARS COV2, abbiamo inoltre studiato e caratterizzato il caso di una giovane donna con trombosi venosa cerebrale massiva causata da VITT. La trombocitopenia trombotica immunitaria indotta da vaccino (VITT) è una nuova rara variante della trombocitopenia spontanea indotta da eparina (HIT). È stato recentemente

descritto in relazione a vaccini a DNA basati su vettori di adenovirus non replicanti (ChAdOx1 nCoV-19 [Oxford–AstraZeneca] [3][4] e Ad26.COV2.S [Johnson & Johnson/Janssen]).

Non è noto se i trattamenti standard correlati all'HIT siano efficaci e sicuri nei casi di VITT.

Abbiamo studiato il caso di una donna di 26 anni precedentemente sana in terapia con pillola contraccettiva con trombosi venosa cerebrale multipla massiva correlata a VITT, trattata con successo con desametasone, Ig-HD e Argatroban.

La caratterizzazione clinica e laboratoristica del caso, in collaborazione con i colleghi ematologi del centro emofilia e trombosi Bianchi- Bonomi, è stata pubblicata in due differenti pubblicazioni.

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 tuttora in corso; nel 2021 sono stati pubblicati due lavori di caratterizzazione clinica, radiologica e genetica dei pazienti arruolati.

Bonato S, Artoni A, Lecchi A, Schwarz G, La Marca S, Padovan L, Clerici M, Guadino C, Comi GP, Tripodi A, Peyvandi F.

Massive cerebral venous thrombosis due to vaccine-induced immune thrombotic thrombocytopenia. Haematologica. 2021 Nov 1;106(11):3021-3024.

Cugno M, Macor P, Giordano M, Manfredi M, Griffini S, Grovetti E, De Maso L, Mellone S, Valenti L, Prati D, Bonato S, Comi G, Artoni A, Meroni PL, Peyvandi F.

Consumption of complement in a 26-year-old woman with severe thrombotic, thrombocytopenia after ChAdOx1 nCov-19 vaccination.

J Autoimmun. 2021 Nov;124: 102728. Epub 2021 Sep 27.

Gagliardi D, Faravelli I, Podestà MA, Brusa R, Mauri E, Saccomanno D, Di Fonzo A, Bonato S, Scarpini E, Bresolin N, Comi GP, Corti S.

Sodium Levels Predict Disability at Discharge in Guillain-Barré Syndrome: A Retrospective Cohort Study.

Front Neurol. 2021 Sep 7;12:729252.

Carandina A, Lazzeri G, Villa D, Di Fonzo A, Bonato S, Montano N, Tobaldini E.

Targeting the Autonomic Nervous System for Risk Stratification, Outcome Prediction and Neuromodulation in Ischemic Stroke.

Int J Mol Sci. 2021 Feb 26;22(5):2357.

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 Aug;16(5):1247-1252.

Lanfranconi S, Piergallini L, Ronchi D, Valcamonica G, Conte G, Marazzi E, Manenti G, Bertani GA, Locatelli M, Triulzi F, Bresolin N, Scola E, Comi GP.

Clinical, neuroradiological and genetic findings in a cohort of patients with multiple Cerebral Cavernous Malformations.

Metab Brain Dis. 2021 Oct;36(7):1871-1878.

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 Jun;99(6):829-835.

DIPARTIMENTO DI NEUROLOGIA e LABORATORIO DI NEUROSCIENZE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO ISTITUTO AUXOLOGICO
ITALIANO IRCCS

RESPONSABILE

Prof. Dott. Vincenzo Silani

Dipartimento di Neurologia:

Dott.ssa Laura Adobbati	Dirigente I° Livello – Stroke Unit Istituto Auxologico Italiano IRCCS
Dott. Luca Maderna	Dirigente I° Livello - Neurofisiologia Istituto Auxologico Italiano IRCCS
Dott. Stefano Messina	Dirigente I° Livello - Neurologia Istituto Auxologico Italiano IRCCS
Dott. Andrea Ciammola	Dirigente I° Livello - Neurologia Istituto Auxologico Italiano IRCCS
Dott.ssa Claudia Morelli	Dirigente I° Livello - Neurologia Istituto Auxologico Italiano IRCCS
Dott.ssa Barbara Corrà	Dirigente I° Livello – Stroke Unit Istituto Auxologico Italiano IRCCS
Prof. Nicola Ticozzi	Professore Associato Neurologia Università degli Studi di Milano Istituto Auxologico Italiano IRCCS
Dott. Luca Campana	Neurologo, Contrattista in Convenzione Istituto Auxologico Italiano IRCCS
Dott. Riccardo Doronzo	Neurologo, Consulente in Convenzione Istituto Auxologico Italiano IRCCS
Dott.ssa Paola Mattaliano	Dirigente I° Livello - Centro Sonno Istituto Auxologico Italiano IRCCS
Dott. Alberto Doretti	Neurologo, Consulente in Convenzione Istituto Auxologico Italiano IRCCS
Dott. Federico Verde	Ricercatore a Tempo Determinato tipo A Università degli Studi di Milano Istituto Auxologico Italiano IRCCS
Dott.ssa Daniela Ungaro	Dirigente I° Livello - Neurologia Istituto Auxologico Italiano IRCCS
Dott.ssa Eleonora Colombo	Dirigente I° Livello - Neurologia Istituto Auxologico Italiano IRCCS
Dott. Gianluca Demirtzidis	Tecnico di Neurofisiologia Coordinatore Centro Trial Clinici

	Istituto Auxologico Italiano IRCCS
Dott.ssa Martina Sodano	Study Nurse Centro Trial Clinici Istituto Auxologico Italiano IRCCS
Dott.ssa Barbara Poletti	Dirigente I° Livello - Psicologia Istituto Auxologico Italiano IRCCS
Dott.ssa Annalisa Lafronza	Psicologa, Contrattista a Progetto Istituto Auxologico Italiano IRCCS
Dott. Laura Carelli	Psicologa, Contrattista a Progetto stituto Auxologico Italiano IRCCS I
Dott.ssa Federica Solca	Psicologa, Assegnista di ricerca Post doc -Tipo A Università degli Studi di Milano Istituto Auxologico Italiano IRCCS
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 Roberta Fratoni	Psicologa, Consulente in Convenzione Istituto Auxologico Italiano IRCCS
Dott.ssa Silvia Torre	Psicologa, Contrattista a Progetto
Dott. Paolo Banfi	Istituto Auxologico Italiano IRCCS Pneumologo, Consulente in Convenzione
Barbara Riccardi	Istituto Auxologico Italiano IRCCS Tecnico neurofisiologa Istituto Auxologico Italiano IRCCS
Francesca Gregorini	Tecnico neurofisiologa Istituto Auxologico Italiano IRCCS
Patrizia Nelli	Segreteria Scientifica Dipartimento Neurologia Istituto Auxologico Italiano IRCCS

Laboratorio Sperimentale di Ricerche di Neuroscienze

Dott.ssa Antonia Ratti	Professore Associato Genetica Università degli Studi di Milano Istituto Auxologico Italiano IRCCS
Dott.ssa Donatella Bardelli	Biologa, Contrattista a Progetto Istituto Auxologico Italiano IRCCS
Dott.ssa Patrizia Bossolasco	Biologa, Contrattista a Progetto Istituto Auxologico Italiano IRCCS
Dott. Alberto Brusati	Biologo, Dottorando Università degli Studi di Pavia - Istituto Auxologico Italiano IRCCS

Dott. Valeria Casiraghi	Biotecnologa, Dottoranda Università degli Studi di Milano - Istituto Auxologico Italiano IRCCS
Dott.ssa Claudia Colombrita	Biologa, Contrattista a Progetto Istituto Auxologico Italiano IRCCS
Dott.ssa Valentina Gumina	Biologa, Contrattista a Progetto Istituto Auxologico Italiano IRCCS
Dott.ssa Ilaria Milone	Biologa, Contrattista a Progetto Istituto Auxologico Italiano IRCCS
Dott.ssa Silvia Peverelli	Biotecnologa, Contrattista a Progetto Istituto Auxologico Italiano IRCCS
Dott.ssa Serena Santangelo	Biologa, Dottoranda Università degli Studi di Milano - Istituto Auxologico Italiano IRCCS
Dott.ssa Marta Sorce	Biologa, Contrattista a Progetto Istituto Auxologico Italiano IRCCS

Rapporti di collaborazione:

Nazionali:

Centro “Dino Ferrari”	Prof. Giacomo Comi, Prof. Stefania Corti, 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, Dott. Pietro Tiraboschi, Dott. F. Moda
IRCCS Ospedale Maggiore Policlinico	Dott.ssa Lorenza Lazzari
IRCCS Istituto Mondino, Pavia	Prof. Fabio Blandini,
Centro Clinico Nemo	Dott. Christian Lunetta, Dott.ssa Valeria Sansone
Prof.ssa Carolina Lombardi	Centro Sonno Istituto Auxologico Italiano IRCCS
Dipartimento di Endocrinologia IRCCS Istituto Auxologico Italiano	Prof. Luca Persani
Laboratorio di Citogenetica	Prof.ssa Palma Finelli, Dott.ssa Daniela Giardino, IRCCS Istituto Auxologico Italiano
Dipartimento di Farmacologia Università di Milano - CEND	Dott. Luigi Sironi, Dott. A.E. Rigamonti
IRCCS Ospedale Maggiore Policlinico	Prof. Fabio Triulzi

Neuroimaging Research Unit and Department of Neurology, Institute of Experimental Neurology, Division of Neuroscience and Department of Neuroradiology, Vita-Salute University and San Raffaele Scientific Institute, Milan Laboratory of Molecular Pathology International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology (ICGEB), Trieste Dipartimento di Scienze Farmacologiche Biomolecolari, CEND, Università degli Studi di Milano	Dott. Alessandro Sillani Dott.ssa Clara Sina Dott. Giorgio Conte Dott.ssa Claudia Cinnante Ing. Valeria Contarino Prof. Massimo Filippi Prof. ssa Federica Agosta Prof. Andrea Falini Dott. Emanuele Buratti, Dott. Francisco Baralle Dott. Marco Baralle Prof. Angelo Poletti, Dott.ssa Valeria Crippae
Dipartimento di Biotecnologie Mediche e Medicina Traslazionale, Università degli Studi di Milano Centro EBRI, Roma Università degli Studi di Torino IRCCS Centro San Giovanni di Dio Fatebenefratelli, Brescia	Dott. Francesco Bifari Dott. Marco Feligioni Prof. Adriano Chiò, Prof. Andrea Calvo Dott.ssa R. Ghidoni, Dott.ssa L. Benussi
<u>Internazionali:</u>	
University of Massachussetts Medical School, Department of Neurology Worcester, MA, USA Ryan Institute for Neuroscience University of Rhode Island Kingston Rhode Island, RI, 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	Prof. Robert H. Brown, Prof. John Landers Prof.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

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. 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 il Dipartimento di Neurologia e Laboratorio Sperimentale di Ricerche di Neuroscienze dell'Università degli Studi di Milano all' Istituto Auxologico Italiano IRCCS ha prodotto nel 2021 un rilevante numero di contributi scientifici volti a definire i meccanismi patogenetici prevalentemente delle patologie neurodegenerative, con traslazione dalla clinica al laboratorio. Ha continuato a dimostrare inoltre vivo interesse per una nuova area della neurologia in rapporto alla pandemia da COVID-19, in particolare in rapporto al Long-COVID. Con la pandemia COVID-19 si è acceso infatti un grande interesse per le complicanze neurologiche con un lavoro volto allo sviluppo di un protocollo nazionale di raccolta dei casi clinici con interessamento sia nel sistema Nervoso Centrale che Periferico sotto egida della Società Italiana di Neurologia (SIN). Le diverse patologie neurodegenerative - Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA) e Malattie del Motoneurone, Demenza Frontotemporale (FTD), Malattia di Alzheimer (AD) e altre Demenze, Malattia di Parkinson (PD) e parkinsonismi, Malattia di Huntington (HD) - sono state studiate con lo sviluppo di Centri dedicati alla valutazione clinica e strumentale con complementare raccolta di biomarcatori ed elaborazione di innovative strategie terapeutiche: è continuata, inoltre, la crescita di un Centro Trial Clinici che si avvia ora a sviluppare terapia genica ed infusionale intratecale con anticorpi in diverse patologie neurodegenerative. Parallelamente all' attività clinica e di ricerca, è proseguita la formazione di giovani medici, MD/PhD, biologi e 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'Istituto Auxologico Italiano IRCCS, partecipe 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' Istituto Auxologico Italiano IRCCS continua anche a far parte del Northeast ALS Consortium (NEALS-USA), dell' ENCALS, di MinE, di TRICALS, ed ha aderito all'Italian Frontotemporal Dementia Network (FTD Group – SINDEM).

Nel 2021 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. dedicata e diretta dalla Prof. Carolina Lombardi. Si è aggiunta l'elettroceutica per la stimolazione della corteccia motoria nella patologia motoneuronale in collaborazione con il Prof. Vincenzo Di Lazzaro, dell' Università Campus Bio Medico di Roma.

Nel 2021 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 linee di ricerca che hanno visto la messa a punto e l'implementazione di innovativi test cognitivi indaganti in particolare le alterazioni frontali nei pazienti affetti da SLA tramite innovative metodiche atte a bypassare le limitazioni verbo-motorie che caratterizzano la suddetta patologia, quale l'Eye Tracking (ET) 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 Prof.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 è locato 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, con sviluppo ulteriore del progetto di associazione genica tipo "genome wide" (GWAS) per la definizione di geni di suscettibilità nella SLA sporadica con l'importante contributo del Consorzio SLAGEN per la raccolta dei campioni di DNA e la sincronia di ricerca con diversi Centri Italiani. La diagnostica molecolare è stata arricchita potendo fornire oggi un pannello diagnostico completo per le malattie del motoneurone (SLA), le Demenze (FTD e la Malattia di Alzheimer), 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.

La migliore espressione dell'attività svolta dalla Sede Distaccata del Centro "Dino Ferrari" sta nell'ulteriore consenso internazionale raggiunto nel 2021 anche per ricercatori (no. 3) che stanno svolgendo o hanno completato periodi formativi in qualificati Laboratori in Europa o nel Nord-America con cui il Centro "Dino Ferrari" ha scambi collaborativi di elevato livello. In particolare, la Dr.ssa Isabella Fogh continua ad occuparsi dello studio di geni modificatori regolanti la SLA sporadica in U.K.. 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 in London, ha analizzato dati genotipici di tutto il genoma (GWAS) in un gran numero di pazienti Europei, nord Americani ed asiatici raccolti da consortia internazionali quali SLAGEN, ALSGEN e Project MinE.

L'Istituto Auxologico Italiano IRCCS 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 quattro istituti virtuali (Demenze, e Malattia di Parkinson, Malattie Cerebrovascolari, Malattie Rare) di cui il Prof. V. Silani è presente nel Consiglio Direttivo con la collaborazione a due piattaforme (genetica e proteomica) nell'ambito della stessa Rete dei NeuroIRCCS (RIN). Nel 2021 il Prof. V. Silani è stato eletto nel Consiglio Direttivo della RIN (2021 – 2024).

Il Prof. V. Silani è parte all'editorial Board di European Neurology, ALS/FTD, American Journal of Neurodegenerative Diseases ed Annals of Transplantation Research; è stato nominato Fellow della American Academy of Neurology (FAAN) oltre che essere già Fellow della European Academy of Neurology (FEAN). È stato nel 2021 Esaminatore per l'European Board of Neurology dell'U.E.M.S.. Il Prof V. Silani è Membro della Society of Neuroscience U.S.A da oltre 30 anni.

PRINCIPALI ARGOMENTI DI RICERCA

STUDIO NeuroCOVID

È stato apprestato un registro nazionale che comprende anche San Marino per la raccolta dei casi di NeuroCOVID nella penisola, sotto patrocinio della Società Italiana di Neurologia (SIN) e dell'European Academy of Neurology (EAN). Gli Specializzandi in Neurologia della Scuola di Specializzazione dell'Università degli Studi di Milano hanno largamente contribuito alla raccolta

dei casi immettendoli nel database nazionale e segnalando il NeuroCOVID in uno studio controllato sull' iposmia concluso analogamente alla definizione dei livelli sierici di Neurofilamento.

STUDIO DEI LIVELLI SIERICI DELLA CATENA LEGGERA DEI NEUROFILAMENTI (NFL) IN PAZIENTI AFFETTI DA COVID-19

Nel 2021 è stato realizzato lo studio “Neurobiocovid”, volto alla quantificazione dei livelli sierici della catena leggera dei neurofilamenti (NFL) in pazienti con Covid-19 in confronto a controlli privi di malattie neurologiche. Le misurazioni sono state effettuate con la tecnologia ultrasensibile Simoa (single molecule array) mediante lo strumento SR-X (Quanterix). Sono stati analizzati 57 pazienti con Covid-19 e 30 controlli. I pazienti con Covid-19 sono pazienti che erano stati ricoverati nelle unità Covid dell'Ospedale San Luca dell'Istituto Auxologico Italiano IRCCS nel corso della prima ondata della pandemia da SARS-CoV-2 (marzo-maggio 2020). In 20 pazienti sono stati analizzati anche i livelli di NFL nel siero prelevato in un momento successivo del ricovero rispetto al prelievo baseline (distanza tra i due prelievi compresa tra 7 e 30 giorni). Tutti i pazienti con Covid-19 studiati erano privi di malattie neurologiche preesistenti. Si è dimostrato che i livelli di NFL nei pazienti con Covid-19 sono più alti rispetto ai controlli privi di malattie neurologiche, e la differenza riguarda egualmente le 3 classi di gravità del Covid-19 definite nella casistica sulla base del livello di insufficienza respiratoria. In accordo con ciò, i livelli sierici di NFL nei pazienti con Covid-19 sono solo scarsamente associati con parametri clinici esprimenti la gravità delle alterazioni degli scambi respiratori, mentre hanno maggiore correlazione con parametri biochimici riflettenti lo stato di attivazione infiammatoria sistemica. I livelli di NFL nel siero nel corso della degenza sono più elevati rispetto ai livelli baseline nella maggior parte dei pazienti studiati longitudinalmente, ma la differenza non è statisticamente significativa. Lo studio indica che il danno neuroassonale, del quale la elevazione di NFL sul siero è espressione, può essere un evento fisiopatologico del Covid-19. Esso non sembra dipendere direttamente o totalmente dal deficit della funzione respiratoria bensì sembra poter essere una conseguenza della attivazione infiammatoria sistemica in risposta alla infezione da SARS-CoV-2; non è però escludibile che il danno neuroassonale nel Covid-19 dipenda almeno parzialmente da meccanismi virus-specifici, inclusa una eventuale tossicità diretta sui neuroni/sugli assoni.

APPROCCI INNOVATIVI PER L'IDENTIFICAZIONE E LA VALIDAZIONE DI BIOMARCATORI NELL'AMBITO DELLE MALATTIE NEURODEGENERATIVE

Questo progetto multicentrico in corso nel 2021, 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 (AD), 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. Nel 2021 sono state effettuate misurazioni di NFL (catena leggera dei neurofilamenti, biomarcatore di degenerazione/danno neuroassonale) e dei frammenti amiloidi A-beta 1-42 e A-beta 1-40 sugli esosomi isolati da liquor e da plasma di pazienti con AD e di controlli neurologicamente sani, nonché misurazioni dei livelli di NFL direttamente circolanti nel liquor e nel plasma dei medesimi

pazienti. Per quanto riguarda NFL, come atteso i livelli sia liquorali sia plasmatici del biomarcatore sono risultati superiori nei pazienti con AD in confronto ai controlli. Anche i livelli di NFL misurati sugli exosomi isolati dai due liquidi biologici sono risultati superiori nei pazienti con AD rispetto ai controlli, ma nel caso degli exosomi isolati da plasma la differenza non è statisticamente significativa. Per quanto riguarda i peptidi A-beta, A-beta 1-42 e la ratio A-beta 1-42/A-beta 1-40 sia nel liquor sia nel plasma sono risultati come atteso inferiori nei pazienti con AD rispetto ai controlli. Negli exosomi isolati dai due liquidi biologici si è osservata una analoga differenza, ma solo la differenza della ratio A-beta 1-42/A-beta 1-40 negli exosomi isolati da liquor è statisticamente significativa. Nel complesso il lavoro mostra che i comuni biomarcatori NFL, A-beta 1-42 e A-beta 1-40 sono quantificabili con tecnologia Simoa anche sugli exosomi isolati da liquor e plasma e le loro modificazioni quantitative nella malattia di Alzheimer possono avere un significato diagnostico simile a quello delle loro controparti misurate direttamente sui liquidi biologici.

STUDIO DEL BIOMARCATORE LIQUORALE CHIT1 NELLA SCLEROSI LATERALE AMIOTROFICA (SLA) IN FASE PRECOCE

Il nostro centro ha partecipato ad uno studio multicentrico coordinato dai colleghi del Dipartimento di Neurologia della Clinica Universitaria di Ulm (Germania) nel quale sono stati analizzati i livelli liquorali del biomarcatore di attivazione microgliale Chit1 (chitotriosidasi) in pazienti con sclerosi laterale amiotrofica (SLA). Il medesimo gruppo di ricercatori aveva realizzato uno dei primi studi di questa molecola come biomarcatore neurochimico della SLA. Sono stati studiati pazienti con SLA e altre malattie del motoneurone, pazienti con altre malattie neurologiche e controlli privi di malattie neurologiche (numero complessivo di partecipanti 275). I livelli liquorali di Chit1 nella SLA sono risultati elevati più altri che nelle altre condizioni, e ciò vale anche per i pazienti valutati entro 6 mesi dall'esordio dei sintomi. I livelli liquorali di Chit1 correlano con quelli dei neurofilamenti ma la performance diagnostica dei neurofilamenti nella SLA rimane superiore a quella di Chit1. I livelli di Chit1 sono associati negativamente con la sopravvivenza nei pazienti con SLA valutati più di 6 mesi dopo l'esordio dei sintomi, mentre nei pazienti valutati entro 6 mesi dall'esordio i livelli liquorali di Chit1 sono predittivi della successiva evoluzione ad uno stadio di malattia più avanzato come espresso dalla categoria diagnostica di El Escorial. Il lavoro, che è stato pubblicato sulla rivista *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, conferma la potenziale utilità di Chit1 come biomarcatore microgliale della SLA anche nelle sue fasi precoci.

CONFRONTO TRA NFL E NFH (CATENA LEGGERA E CATENA PESANTE DEI NEUROFILAMENTI) COME BIOMARCATORI DIAGNOSTICI DELLA SLA

In questo lavoro coordinato dai colleghi del Dipartimento di Neurologia della Clinica Universitaria di Ulm (Germania) sono stati analizzati nella medesima casistica di pazienti i livelli liquorali e sierici dei due biomarcatori di degenerazione neuroassonale NFL e NFH, rispettivamente catena leggera e catena pesante dei neurofilamenti. Trattasi di uno dei pochi studi in cui i 4 parametri (NFL liquorale, NFH liquorale, NFL sierico e NFH sierico) sono stati studiati nella medesima casistica, potendo così trarre conclusioni rilevanti su eventuali differenze di performance diagnostica. I biomarcatori sono stati analizzati utilizzando la piattaforma altamente automatizzata Ella (ProteinSimple). Sono stati studiati 75 pazienti con SLA nonché pazienti con altre malattie neurodegenerative, con malattie neurologiche non degenerative e senza rilevanti malattie neurologiche. La correlazione tra i livelli liquorali e sierici di NFL è risultata più forte rispetto a quella relativa a NFH. NFH è superiore a NFL nel discriminare tra SLA e demenza frontotemporale (FTD). Tuttavia, nel complesso la performance diagnostica per la SLA è superiore per NFL liquorale che per NFH liquorale. Ad essi seguono, con meno elevate performance diagnostiche, NFL sierico e poi NFH sierico. Lo studio è stato pubblicato sulla rivista *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*.

REVISIONE DELLA LETTERATURA SUL RUOLO DI NFL (CATENA LEGGERA DEL NEUROFILAMENTO) COME BIOMARCATORE DI SLA E DEMENZA FRONTOTEMPORALE

Il nostro Centro ha pubblicato una revisione della letteratura sul ruolo di NFL (catena leggera del neurofilamento) come biomarcatore della SLA e della demenza frontotemporale, letteratura alla quale ha peraltro contribuito. La review descrive la costituzione molecolare nei neurofilamenti ed il razionale fisiopatologico dell'impiego di NFL come biomarcatore, analizzando la sua utilità per la diagnosi delle due malattie, incluse la diagnosi precoce e la diagnosi differenziale nei confronti di malattie affini, nonché le sue relazioni con caratteristiche fenotipiche, con la presenza di mutazioni genetiche e con dati neuroradiologici, la sua potenziale utilità prognostica e le sue variazioni longitudinali nel tempo nel corso del progredire delle malattie. Vengono anche discussi aspetti irrisolti o controversi e prospettive di indagine futura. La review è stata pubblicata sulla rivista *Frontiers in Neuroscience*.

STUDIO DELLO SPETTRO RAMAN SALIVARE DI PAZIENTI AFFETTI DA MALATTIA DI PARKINSON

Il nostro Centro ha partecipato, fornendo alcuni pazienti, a questo studio condotto dai Colleghi del Laboratorio di proteomica dell'IRCCS Don Gnocchi. E' stato analizzato lo spettro Raman della saliva di 23 pazienti con malattia di Parkinson confrontati con pazienti affetti da altre malattie neurologiche e controlli privi di malattie neurologiche. Gli spettri Raman sono stati analizzati mediante approcci di intelligenza artificiale. Ne è risultata una differenza di spettro Raman che permette di classificare correttamente gli individui in una alta percentuale dei casi. Inoltre lo spettro Raman presenta correlazioni con dati clinici nei pazienti con malattia di Parkinson. Questo studio pilota, pubblicato sulla rivista *Frontiers in Neuroscience*, contribuisce a porre le basi per un possibile utilizzo innovativo della spettroscopia Raman nella diagnosi della malattia di Parkinson nonché nella sua caratterizzazione fenotipica e biologica.

META-ANALISI SULL'EFFETTO DEI FARMACI INIBITORI DEL SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA SUL RISCHIO DI DEMENZA

Il nostro Centro ha partecipato ad una meta-analisi principalmente effettuata dai Colleghi statistici dell'Università degli Studi di Milano-Bicocca e dell'Istituto Auxologico Italiano IRCCS riguardante l'effetto dei farmaci inibitori del sistema renina-angiotensina (bloccanti del recettore dell'angiotensina, o sartani, e ACE-inibitori) sul rischio di sviluppare demenza. Sono stati analizzati 15 studi pubblicati fino al settembre 2020. Dalla meta-analisi risulta un effetto dei farmaci bloccanti il recettore dell'angiotensina, ma non degli ACE-inibitori, nel ridurre il rischio di sviluppare demenza e di sviluppare la demenza di Alzheimer. La differenza di effetto delle due classi di farmaci potrebbe essere dovuta alla differenza dei principali processi molecolari bloccati e/o a specifiche interazioni dei farmaci con il metabolismo dell'amiloide, elemento centrale della eziopatogenesi della malattia di Alzheimer. Lo studio, nel quale i ricercatori del nostro Centro hanno fornito un contributo principalmente consistente nella interpretazione biologica-fisiopatologica dei risultati della meta-analisi, è stato pubblicato sulla rivista *Pharmacological Research*.

SURVEY INTERNAZIONALE SULLA EFFETTUAZIONE E LA REFERTAZIONE DEI DOSAGGI DEI BIOMARCATORI LIQUORALI DELLA MALATTIA DI ALZHEIMER

Il nostro Centro ha partecipato ad una survey internazionale volta a mappare le modalità di dosaggio dei biomarcatori liquorali della malattia di Alzheimer (peptide A-beta 1-42, peptide A-beta 1-40, proteina tau totale, proteina tau fosforilata) in un ampio numero di laboratori dedicati e le relative modalità di refertazione. Sono stati coinvolti 40 centri in Europa, USA, Giappone ed Australia. La survey è stata coordinata dai colleghi dell'Università di Montpellier (Francia). L'indagine ha evidenziato una elevata affinità delle condizioni preanalitiche e delle procedure preanalitiche tra i vari centri, mentre sono risultati più eterogenei i cut-off utilizzati e le modalità di

interpretazione/refertazione dei risultati dei dosaggi. Le differenze tra i vari centri sono state analizzate e discusse, anche attraverso incontri telematici tra i ricercatori partecipanti, ed infine sono state proposte delle modalità di interpretazione e refertazione armonizzate. In effetti questo lavoro rappresenta il primo tentativo di armonizzazione su vasta scala internazionale della refertazione dei risultati dei dosaggi dei biomarcatori liquorali della malattia di Alzheimer. Lo studio è stato pubblicato sulla rivista *Alzheimer's and Dementia*, rivista di riferimento del settore.

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

Nel corso del 2021, 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) Genome-wide association study (GWAS) nella SLA.

Il FALS Sequencing Consortium e il Consorzio SLAGEN hanno partecipato a uno studio GWAS condotto su 29.612 pazienti con SLA e 122.656 controlli, che ha identificato 15 loci associati al rischio di sviluppare la malattia. Lo studio, combinato con dati ottenuti dal sequenziamento del genoma di 8.953 individui (6.538 pazienti, 2.415 controlli) e un ampio dataset di tratti quantitativi espressi nella corteccia cerebrale (eQTL), ha evidenziato diversi loci di rischio condivisi con altre patologie neurodegenerative, con pattern di distribuzione specifici per diverse regioni cerebrali e popolazioni neuronali. Un'analisi di randomizzazione mendeliana ha indicato un ruolo causale per l'ipercolesterolemia. La combinazione di tutti i segnali associati alla SLA rivela un ruolo patogenetico per le alterazioni nei pathway cellulari di trasporto vescicolare e per l'autofagia e suggerisce che le prime alterazioni biochimiche a monte dell'intero processo patologico avvengano all'interno dei neuroni glutamatergici. (van Rheenen et al., Nat Genet 2021).

b) Identificazione di varianti di suscettibilità per la SLA nel gene *SPTLC1*.

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 *SPTLC1*, codificante per un enzima coinvolto nella sintesi degli sfingolipidi. La stessa mutazione è stata successivamente osservata in altri casi di SLA giovanile, 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 *SPTLC1* 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 *SPTLC1*. Il lavoro è stato pubblicato su JAMA Neurology (Johnson et al, 2021).

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 2021 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 Rheen 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 cosrutti wild-type e mutanti per entrambi i geni e over-espressione in cellule U2OS, sono state valutate sia la distribuzione sub-cellulare dei due mutanti in condizioni normali ed in seguito ad induzione del danno, sia la capacità di recovery del danno al DNA nel tempo. I nostri dati preliminari indicano che le proteine ricombinanti mutate mostrano una distribuzione diversa in seguito a danno rispetto alle proteine wild-type e, in particolare, la proteina *NEK* p.R261H mostra una ridotta capacità di riparazione del danno al DNA, valutata quantitativamente con il marcatore istonico γ H2A.

In parallelo una grossa casistica di 600 casi SLA sporadici e familiari è stata da noi analizzata per identificare possibili nuovi varianti rare nei geni *NEK1* e *C21orf2* e valutarne la frequenza nella popolazione italiana. I dati genetici indicano la ricorrenza della variante *NEK*p.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 2021 è stato sequenziato il genoma di 61 pazienti SLA progenie di matrimonio tra consanguinei; è attualmente in corso la ricerca delle varianti candidate nelle regioni di autozigosità.

CARATTERIZZAZIONE FENOTIPICA DEI PAZIENTI AFFETTI DA SCLEROSI LATERALE AMIOTROFICA

Nel corso del 2021 è stato condotto uno studio di deep-phenotyping nei pazienti affetti da Sclerosi Laterale Amiotrofica seguiti presso l'Istituto Auxologico Italiano IRCCS. Tale studio, integrando dati clinici, neurofisiologici e neuropsicologici, ha dimostrato che le alterazioni dell'oculomozione clinicamente evidenti sono associate alla presenza di disfunzione cognitiva (Poletti et al., *Neurology* 2021) e che pazienti con maggior interessamento del primo motoneurone presentano più frequentemente sintomi comportamentali (Maranzano et al. *Eur J Neurol* 2022).

RUOLO DEI miRNA ESOSOMIALI NELLA PATOGENESI DELLA SLA

Malgardo la continua scoperta di nuove mutazioni, la patogenesi della SLA rimane ad oggi ignota, in particolare per la maggioranza dei casi sporadici. La patogenesi clinica della SLA suggerisce una possibile diffusione prionica da cellula a cellula della malattia, possibilmente mediata da esosomi, piccole vescicole da endocitosi, coinvolte nella propagazione di molecole di RNA e proteine. E' stato effettuato uno studio pilota, focalizzato sui microRNA, regolatori chiave di numerosi pathways di signalling. A tale scopo sono stati estratti esosomi mediante l'utilizzo di un kit commerciale da siero di pazienti affetti da SLA (sporadici e mutati) e confrontati con quelli derivanti da donatori sani. La purificazione dei miRNA è stata ottenuta su colonnine e l'RNA retrotrascritto in cDNA per poi essere analizzato mediante miRCURY LNATM Universal RT miRNA PCR Serum/Plasma Focus panel. E' stato rilevato un numero medio di 29 miRNA per campione. Non è stata osservata nessuna differenza statisticamente significativa tra i diversi gruppi indicando nessun miRNA del pannello utilizzato avere un forte ruolo patogenetico nella malattia. Selezionando i campioni con maggior contenuto di RNA, si è osservato che 6 diversi processi biologici venivano condivisi tra i miRNA attraverso l'intersezione delle categorie GO identificate. Questo studio è stato oggetto di pubblicazione (Pregnotato F., Cova L., Doretto A., Bardelli D., Silani V., Bossolasco P. Exome microRNA in Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Pilot Study. *Biomolecules* 2021).

iPSC: UN MODELLO PER LO STUDIO DELLE MALATTIE NEURODEGENERATIVE

Nel corso del 2021 è proseguito l'utilizzo delle iPSCs come modello di studio nelle malattie neurodegenerative in particolare nella SLA e nell'FTD. Nello studio in collaborazione con l'Istituto Besta, i neuroni corticali differenziati da iPSCs di pazienti con mutazione nel gene della Progranulina generati durante il 2020 sono stati caratterizzati ed è in corso la valutazione di eventuali differenze tra cellule del paziente e un controllo sano riguardo alle caratteristiche anomalie relative a tale mutazione.

E' stata utilizzata la tecnica CRISPR/Cas9 per creare una linea isogenica di una linea iPSC mutata già presente nel laboratorio. In particolare la mutazione p.A382T nel gene *TARDBP* è stata revertita a *wild-type* utilizzando un sistema a gRNA e donor DNA a oligo e proteina Cas9 ricombinante. Mediante nucleofezione delle cellule iPSC mutate sono stati selezionati e sequenziati tutti cloni ottenendo una buona efficienza di editing genomico. E' stato, quindi, scelto un clone iPSC isogenico *wild-type* che è stato caratterizzato per l'espressione dei marcatori di staminalità e per l'integrità del genoma mediante analisi di cariotipo. Sono attualmente in corso esperimenti per la generazione di organoidi da entrambe le linee cellulari per lo studio di eventuali differenze sia nello sviluppo degli organoidi che nell'espressione di marcatori neurali specifici per valutare l'eventuale ruolo patogenetico della mutazione *TARDBP*. Proseguono inoltre gli esperimenti relativi allo studio del ruolo della mutazione nel gene *C9orf72* nel causare due patologie agli estremi del *continuum* patofisiologico SLA-FTD. Sono già stati differenziati in motoneuroni e neuroni corticali le iPSCs di due pazienti affetti uno da SLA e l'altro da FTD.

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. A proseguimento dello studio iniziato, sono state riprogrammate un totale di 5 linee iPSCs *C9orf72* da fibroblasti di pazienti SLA appartenenti alla stessa famiglia che presenta instabilità genomica con i diversi membri portatori di un diverso numero di espansioni patologiche. 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 verranno utilizzate per generare organoidi e comparare il livello di instabilità genomica di *C9orf72* durante il differenziamento delle iPSC di questa famiglia. Altro obiettivo del progetto, necessario per lo studio dell'instabilità genomica, è la messa a punto di un metodo analitico-diagnostico per la determinazione precisa dell'entità dell'espansione del gene *C9orf72* dove le ripetizioni possono raggiungere fino a 4000 unità di espansione e dove la tecnica di Southern blot non è utilizzata di routine in fase di diagnosi genetica.

In collaborazione con il Dott. Georg Hasse (Marsiglia) è stata utilizzata la tecnologia di *Optical mapping* di Bionano Genomics che consente l'analisi di grandi sequenze di DNA e l'identificazione di grossi riarrangiamenti genomici. A tal fine organoidi sono stati generati da due diverse linee iPSC *C9orf72* e da un controllo sano già presenti in laboratorio in collaborazione con il Dott. Damian Wollny (Università di Liepzig). Gli organoidi sono stati da noi caratterizzati mediante immunocitochimica per l'espressione di marcatori neurali espressi a diversi tempi dello sviluppo (nestina, SOX2, BetaIII tubulina, MAP2, NeuN, Doublecortin e GFAP). L'entità dell'espansione di *C9orf72* degli organoidi è stata, quindi, determinata mediante tecnologia *Optical mapping*. I risultati ottenuti hanno evidenziato l'efficacia di tale metodica nell'identificare la presenza di riarrangiamenti, quali l'espansione patologica del gene *C9orf72*. Inoltre è stata osservata una buona correlazione tra l'entità dell'espansione rilevata negli organoidi con tale tecnica e quella nelle iPSCs da cui sono stati originati, valutata presso il nostro laboratorio con metodica di Southern Blot, suggerendo che la tecnologia di *Optical mapping* ha un'ottima sensibilità e specificità.

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)

Un'ipotesi patogenetica circa la formazione degli aggregati patologici citoplasmatici di TDP-43 nella SLA e nella FTD consiste nella precoce formazione di granuli da stress che, in condizioni di stress cronico e deragliamento dei sistemi di proteostasi, degenererebbero gradualmente nelle inclusioni patologiche osservate nei pazienti. La mancanza di modelli cellulari sperimentali di malattia in grado di riprodurre gli aggregati di TDP-43 limita ad oggi lo screening di molecole candidate e approcci terapeutici. A tale scopo, per generare un modello *in vitro* di patologia TDP-43 riproducibile da poter utilizzare per approcci di drug screening su larga scala e in grado di minimizzare l'ampia variabilità intra- e inter-individuale precedentemente osservata utilizzando fibroblasti e iPSC-neuron da paziente (Ratti et al, *Neurobiology of Disease* 2020), abbiamo esposto una linea cellulare di neuroblastoma umano a stress ossidativo cronico. Più in dettaglio, le cellule SKNBE sono state trattate a basse dosi di Arsenite per tempi prolungati per indurre la formazione dei granuli da stress (SG) e di aggregati di TDP-43 fosforilato (P-TDP-43), testando diverse condizioni. Mediante questi esperimenti di time-course abbiamo identificato la condizione ottimale di stress ossidativo cronico (40µM Arsenite per 16h) in cui la formazione di SG è massima e avviene nel 25% delle cellule senza indurre morte cellulare. In queste condizioni TDP-43 appare anche molto diffuso nel citoplasma in forma fosforilata, nonché localizzato negli SG. Visto il patomeccanismo proposto di *loss of function* del TDP-43 nucleare nella SLA, abbiamo inoltre valutato gli effetti del trattamento cronico con Arsenite sull'attività di splicing di TDP-43 testando il processamento di alcuni geni bersaglio, come POLDIP3, STMN2 e UNC13A, recentemente identificato. In linea con la mislocalizzazione citoplasmatica di TDP-43, abbiamo osservato

un'attività di splicing difettiva che risulta massima nel tempo e nella concentrazione di Arsenite selezionati.

Con questo studio abbiamo ottenuto un nuovo modello malattia di aggregazione di TDP-43, 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. Allo scopo di testare l'efficacia di nuove molecole in grado di agire sull'aggregazione di TDP-43, le cellule SKNBE sono state sottoposte a trattamento prima, dopo o in concomitanza all'insulto con Arsenite con i seguenti composti: Nortriptilina (antidepressivo triciclico) e Tioridazina (agente antipsicotico), recentemente identificate nel laboratorio del Prof. Baralle (ICGEB, Trieste) come molecole candidate in grado di promuovere la clearance degli aggregati TDP-43 in un modello SLA di *Drosophila*; Rapamicina e Litio come attivatori di autofagia poiché è noto che l'alterazione del processo autofagico favorisce l'aggregazione patologica di TDP-43. Diverse concentrazioni e diversi tempi di trattamento sono stati testati. L'effetto delle molecole candidate nella prevenzione della patologia TDP-43 indotta da Arsenite è in corso di valutazione insieme con la sua efficacia nel recuperare le alterazioni di splicing nei geni target come *readout* della funzionalità di TDP-43.

Le molecole che emergeranno da questo studio come potenzialmente efficaci verranno poi validate in modelli malattia derivati direttamente da paziente, come fibroblasti e iPSC-motoneuroni,

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)

Nel corso dell'anno è proseguito lo studio della metilazione del promotore del gene *C9orf72* come possibile fattore modificatore epigenetico, utilizzando cellule iPSC derivate da pazienti mutati con diverse entità di espansione. Le iPSC sono, infatti, molto utilizzate per studiare i meccanismi patogenetici legati al gene *C9orf72* e per testare possibili approcci terapeutici (oligonucleotidi antisense, molecole), ma ad oggi non sono noti gli effetti della metilazione del promotore di *C9orf72* in queste cellule. A tal fine abbiamo studiato sia la metilazione del promotore genico che la metilazione della stessa sequenza esanucleotidica G4C2 ripetuta.

Il nostro studio è stato condotto su un totale di 10 linee iPSC mutate *C9orf72*, di cui 8 sono state precedentemente riprogrammate nel nostro laboratorio. L'analisi di metilazione ha mostrato che 5 linee iPSC-C9 hanno il promotore del gene *C9orf72* metilato e 5 no, mentre la sequenza ripetuta espansa è metilata in tutti i casi, confermando i dati di letteratura riportati su sangue. L'analisi di espressione genica indica che, mentre la isoforma V2 non cambia, le isoforme V1 e V3, che danno origine all'RNA contenente l'espansione e ai foci patologici di RNA, sono diminuite nelle cellule iPSC-C9 metilate rispetto alle non metilate, come atteso, sebbene con un'alta variabilità inter-paziente. 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 120 a 1300 unità di ripetizione, mentre la espansione patologica si è rivelata longitudinalmente stabile all'interno di ciascuna linea iPSC mutata fino a 40 passaggi in coltura. La formazione di foci di RNA patologici mediante analisi di FISH ha mostrato una correlazione direttamente proporzionale alla dimensione dell'espansione in assenza di metilazione del promotore del gene mutato. La formazione di foci è invece risultata indipendente dalla dimensione dell'espansione quando il promotore è metilato. Il nostro studio rivela che la grande variabilità osservata nei modelli cellulari iPSC-C9 può dipendere sia dall'entità dell'espansione che dalla presenza di fattori modificatori epigenetici come la 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 la modificazione epigenetica di *C9orf72* può agire da fattore modificatore anche nei motoneuroni differenziati da iPSC, abbiamo studiato la metilazione del promotore e l'espressione del gene nei motoneuroni ottenuti da iPSC di un paziente C9 metilato, due pazienti C9 non metilati

(con alto e basso numero di ripetizioni espanse) e di due controlli sani. Il profilo di metilazione del promotore è risultato stabile in tutte le cellule dopo tre differenziamenti motoneuronali indipendenti e l'espressione delle isoforme V1 e V3 diminuisce nei motoneuroni derivati da iPSC-C9 metilate rispetto alle non metilate, similmente a quanto osservato nelle iPSC-C9 indifferenziate. L'analisi della correlazione tra stato di metilazione delle iPSC-motoneuroni e numero di foci di RNA è attualmente in corso al fine di definire l'impatto delle modificazioni epigenetiche del gene *C9orf72* sugli hallmark di malattia legati a tale mutazione.

LA MODIFICAZIONE POST-TRADUZIONALE DI SUMOILAZIONE DELLA PROTEINA TDP-43 NELLA SLA (*Progetto SUMALS, finanziato da Agenzia di ricerca AriSLA –Prof.ssa A.Ratti*)

Nel corso dell'anno abbiamo terminato lo studio della modificazione post-traduzionale di SUMOilazione a carico della proteina TDP-43 e dei suoi possibili effetti biologici sull'attività di splicing di TDP-43, sul suo trasporto nucleo-citoplasma e sulla sua aggregazione. Abbiamo dimostrato che la SUMOilazione avviene a livello nucleare ed è in grado di influenzare la capacità di splicing della proteina nei nostri modelli sperimentali in vitro. La SUMOilazione ha anche un ruolo attivo sul trafficking e sull'aggregazione di TDP-43 nel citoplasma, dimostrato mediante l'utilizzo del peptide TS1 cellulo-permeabile derivato dall'enzima deSUMOilante SENP1. Dopo tale trattamento, infatti, la proteina TDP-43 si localizza maggiormente nel citoplasma nelle cellule di neuroblastoma umano e si osserva una maggior formazione di aggregati citoplasmatici del frammento C-terminale p35, che è presente nei tessuti autoptici dei pazienti SLAFTD. I nostri risultati suggeriscono che la SUMOilazione può modificare l'attività biologica e le proprietà della proteina TDP-43 contribuendo, tra i vari meccanismi patogenetici proposti ad oggi, a favorire la sua aggregazione patologica in condizioni di malattia. I risultati di questo lavoro sono stati pubblicati (Maraschi et al, *Mol Neurobiol* 2021).

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

Il Dipartimento di Neurologia ha proseguito nel 2021 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 FTLD e alla SLA, nell'ipotesi che il processo neurodegenerativo sia guidato dall'architettura strutturale del "connectome" cerebrale. Più specificamente, lo studio mira a: 1. Caratterizzare la progressione della degenerazione dei network cerebrali nelle forme sporadiche di malattia attraverso lo studio delle variazioni longitudinali a carico del connectome strutturale e funzionale applicando l'analisi dei grafi ai dati di RM di diffusione e funzionale; 2. Utilizzare la struttura del connectome cerebrale all'esordio e modelli matematici per predire la progressione spaziale e temporale del processo neurodegenerativo; 3. Definire i pattern di progressione spaziale e temporale del processo neurodegenerativo specificamente associati a diverse eziologie genetiche di FTD e SLA (*C9orf72*, *GRN*, *MAPT*, *TARDBP*) attraverso lo studio delle variazioni longitudinali a carico del connectome strutturale e funzionale in pazienti affetti da forme genetiche e soggetti asintomatici portatori di tali mutazioni.

Il Centro partecipa allo studio fornendo pazienti affetti da forme sporadiche e familiari/genetiche di SLA e di FTD (variante comportamentale o bvFTD, afasia primaria progressiva-variante semantica o svPPA e afasia primaria progressiva-variante non-fluente o nfvPPA). I soggetti vengono sottoposti a visite ogni 6 mesi per un totale di 5 visite (ultimo follow-up a 2 anni dal reclutamento nello studio). In ogni visita vengono effettuate, oltre alla valutazione neurologica, una valutazione neuropsicologica estensiva e un esame di RM 3T comprensivo di sequenze pesate in diffusione, RM funzionale a riposo e RM strutturale. Nella visita basale, nella maggior parte dei casi, viene anche effettuata una puntura lombare, finalizzata tra l'altro, nel caso dei pazienti con FTD in corso di definizione diagnostica, alla quantificazione dei biomarcatori liquorali di neurodegenerazione/malattia di Alzheimer (A-beta 1-42, A-beta 1-40, tau totale, tau fosforilata).

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

Nel 2021 il Dipartimento di Neurologia ha proseguito, con la collaborazione della Neuroradiologia della Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, la partecipazione 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 (referente clinico per l'Istituto Auxologico Italiano IRCCS Dott.ssa C. Morelli). 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 identificare 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 2021, pur con le forti limitazioni derivanti dalla pandemia da Sars-Cov2, è proseguita l'attività di arruolamento dei pazienti affetti da diverse forme di demenza degenerativa e soggetti sani di controllo, secondo i criteri di inclusione propri del protocollo.

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

Nel corso del 2021 è proseguito il progetto di ricerca corrente dal titolo "Studio dei depositi di ferro nella corteccia motoria di pazienti affetti da MND mediante risonanza magnetica cerebrale 3

Tesla”, P.I. Dott.ssa C. Morelli, volto a valutare mediante la sequenza SWI (Susceptibility-Weighted Imaging) in risonanza magnetica ad alto campo (3T), l’entità e la distribuzione di sostanze paramagnetiche nella corteccia motoria nei pazienti affetti da malattia del motoneurone sia rispetto a soggetti sani sia rispetto ad altri pazienti, affetti da altre malattie neurodegenerative. In particolare, scopo dello studio è stato quello di definire un eventuale marcatore radiologico di malattia e la correlazione tra eventuale tra pattern dei depositi paramagnetici e fenotipo di malattia. Sono stati arruolati nello studio complessivamente più di 150 soggetti (pazienti affetti da malattia del motoneurone e soggetti di controllo). L’analisi dei dati ha permesso di identificare un promettente marker radiologico per supportare la diagnosi di Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA), mediante la valutazione quantitativa dell’ipointensità della corteccia motoria primaria nella sequenza SWI, nonché di individuare un potenziale biomarker quantitativo di coinvolgimento del I motoneurone nella SLA, con pubblicazione di due articoli in merito (Conte et al, Amyotrophic lateral sclerosis phenotypes significantly differ in terms of magnetic susceptibility properties of the precentral cortex

Eur Radiol . 2021 Jul;31(7):5272-5280. doi: 10.1007/s00330-020-07547-5. Epub 2021 Jan 5; Conte G et al, A susceptibility-weighted imaging qualitative score of the motor cortex may be a useful tool for distinguishing clinical phenotypes in amyotrophic lateral sclerosis. *Eur Radiol*. 2021 Mar;31(3):1281-1289. doi: 10.1007/s00330-020-07239-0. Epub 2020 Sep 4. PMID: 32886203).

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 2021 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 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. I dati preliminari sono stati pubblicati nel corso del 2021 (Carelli et al., 2021).

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 80 pazienti SLA, 73 pazienti PD e 35 pazienti HD, le cui prestazioni sono state confrontate con un campione di 30 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 (Poletti B et al., 2020) è in corso di approfondimento mediante alcuni studi focalizzati sulla capacità decisionale, le abilità di generare ipotesi alternative ad eventi e relativi ai fattori emotivi che influenzano le scelte dei pazienti affetti da SLA.

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 2021 è proseguita 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 relativa al possibile 'effetto 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 2021 è proseguito 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.

In aggiunta, l'ECAS è stato messo a confronto con un altro strumento per lo screening cognitivo-comportamentale quale l'ALS-CBS mettendo in evidenza potenzialità e limiti su aspetti cognitivi e comportamentali di entrambi (Greco et al., 2021).

EMOTION RECOGNITION NELLA SLA

Il riconoscimento delle emozioni in pazienti affetti da Sclerosi Laterale Amiotrofica sembra avere un ruolo cruciale in alcune scelte di cura dei pazienti, un significato specifico nei pazienti che presentano alterazioni cognitive e/o comportamentali e una stretta associazione con strutture sottocorticali. Nel corso di questo anno in collaborazione con altri centri sono stati pubblicati plurimi risultati rispetto a questo tema (Castelnovo et al., 2021a, Carelli et al., 2021). L'impatto su specifici fenotipi cognitivi, motori e comportamentali è a tutt'oggi in corso.

TELEPSICOTERAPIA-TELECOVID

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). In aggiunta, partendo da questa revisione sistematica della letteratura è stato condotto nel 2021 uno studio avente come obiettivo l'indagine delle caratteristiche psicopatologiche e relazionali di coppie di pazienti e terapeuti che hanno scelto/non scelto di aderire alla prosecuzione delle terapie psicologiche online vs in presenza durante la pandemia. Questo al fine di caratterizzare il setting caratterizzante la psicoterapia online che sempre più si sta diffondendo, le popolazioni cliniche che beneficiano maggiormente di tale approccio, nonché elementi facilitanti e limiti di questa tipologia di intervento. Lo studio è a tutt'ora in corso.

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 (Tagini et al., 2021a).

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 ansio 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. Lo studio che ha avuto notevole impatto mediatico è stato pubblicato nel corso del 2021 (Tagini et al., 2021b)

FATTORI PSICOLOGICI E COGNITIVI LEGATI A COVID-19

Nel corso di quest'anno sono usciti plurimi studi focalizzati sulle sequele psicologiche e cognitive legate al contagio da COVID-19 (Ferrucci et al., 2021, Dini et al., 2021, Ongaro et al., 2021).

Tali lavori hanno messo in evidenza il ruolo di fattori individuali di resilienza nella gestione dello stress legato ad ospedalizzazione per COVID-19. A tutt'oggi in corso la valutazione longitudinale degli effetti cognitivi legati all'aver contratto COVID-19.

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 pubblicata nel 2021 (Tagini et al., 2021c). E' in corso, inoltre, uno studio sistematico sia su pazienti affetti da Sclerosi Laterale Amiotrofica che affetti da Malattia di Parkinson per meglio indicare tali abilità cognitive in queste popolazioni cliniche.

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). Ulteriori studi sono in corso con ampliamento della casistica.

PROGETTO ISTITUTI VIRTUALI NAZIONALI

Nel 2021 è proseguito il progetto multicentrico dedicato agli Istituti Neurologici Virtuali Nazionali, che vede coinvolti 23 IRCCS della rete RIN delle Neuroscienze e Neuroriabilitazione. Il progetto, che ha ottenuto un finanziamento ministeriale complessivo di 2.255.700,00 Euro, prevede la costituzione di diversi Istituti Virtuali dedicati a specifiche categorie di patologie neurologiche. In particolare nella prima fase del progetto sono stati costituiti gli Istituti Virtuali dedicati alle demenze, alla malattia di Parkinson/altri disturbi del movimento, e alla sclerosi multipla/altra malattie neuroimmunologiche. L'obiettivo principale del progetto è realizzare 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, che porti 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 specificamente ai due Istituti Virtuali dedicati alle demenze e alla malattia di Parkinson/altri disordini del movimento, nell'ambito dei quali si avvale di referenti dedicati ai diversi task clinici e scientifici. In particolare il nostro Centro esprime nella persona del Dott. Verde la figura del task leader del task "Biochimica" dell'Istituto Virtuale Parkinson e altri Disordini del Movimento e la figura del co-task leader del task "Clinica" dell'Istituto Virtuale Demenze. Il Dott. Verde ha coordinato, insieme con i task leader del task "Biochimica" degli Istituti Virtuali Demenze e Sclerosi Multipla, una survey volta a mappare le modalità di raccolta e biobancaggio dei materiali biologici in tutti gli IRCCS facenti parte degli Istituti Virtuali, nonché le metodiche e strumentazioni a disposizione di ogni singolo IRCCS per le indagini dei biomarcatori delle relative malattie neurologiche. I risultati di questa survey preliminare hanno costituito la base per l'elaborazione di standard operating procedures (SOPs) relative sia alle fasi preanalitiche (biobancaggio di liquor, sangue, plasma, siero, mucosa olfattoria e cellule mononucleate del sangue periferico, PBMCs) sia alle fasi analitiche (dosaggio dei biomarcatori liquorali della malattia di Alzheimer (A-beta 1-42, A-beta 1-40, tau totale, tau fosforilata) mediante assay commerciale Lumipulse, dosaggio dei medesimi biomarcatori su liquor e su plasma mediante piattaforma Simoa SR-X, dosaggio di NFL e NFH (catena leggera e catena pesante dei neurofilamenti) mediante piattaforma Simoa SR-X e mediante piattaforma Ella, dosaggio di biomarcatori mediante piattaforma Luminex). Tali SOPs sono state poi sottoposte ad

una revisione critica da parte dei referenti del task “Biochimica” di tutti gli IRCCS coinvolti, quindi sono state modificate e nuovamente sottoposte ai referenti di tutti gli IRCCS per una definitiva approvazione. Questo lavoro rappresenta un primo importante passo nella direzione di una armonizzazione delle metodiche preanalitiche ed analitiche in uso negli IRCCS componenti gli Istituti Virtuali.

Per quanto riguarda il task “Clinica” dell’Istituto Virtuale Demenze, si è svolta una analoga attività di armonizzazione, iniziata anche in questo caso con una survey volta alla mappatura dei percorsi diagnostici in uso nei diversi IRCCS per l’inquadramento dei pazienti che giungono alla osservazione per decadimento cognitivo. Questa survey ha costituito la base per l’elaborazione di un algoritmo diagnostico condiviso nel quale sono descritte con dettaglio le procedure diagnostiche strumentali e di laboratorio raccomandate in gruppi di pazienti aventi differenti presentazioni cliniche. E' stato inoltre elaborato un form armonizzato per la raccolta delle informazioni cliniche (CRF) dei pazienti con decadimento cognitivo ricoverati nei diversi IRCCS dell’Istituto Virtuale. Questo CRF è accoppiato ad un sistema di archiviazione di dati clinici su piattaforma RedCap che è stato installato nei vari IRCCS e che costituisce la base per una archiviazione sistematica e condivisa dei dati clinici all’interno dell’Istituto Virtuale Demenze. In particolare il nostro Centro è stato il secondo IRCCS in ordine cronologico dopo l’Istituto Neurologico C. Besta, capofila dell’intero progetto, in cui è stata avviata questa procedura di archiviazione informatica. Analogamente vasto contributo è stato fornito nello sviluppo dell’ Istituto Virtuale dedicato alla Malattia di Parkinson con aspetti traslazionali mediante la piattaforma di genetica che trova il Prof. N. Ticozzi come referente per l’ Istituto. L’ Istituto Virtuale per la Sclerosi Laterale Amiotrofica è stato proposto con il coordinamento del Prof. V. Silani.

CENTRO TRIAL

Nel 2021 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. V.Silani, vengono concluse attività diagnostiche (EMG e Potenziali Evocati), terapeutiche (dispensazione di Riluzolo e trattamenti sperimentali sia farmacologici, che non, come nel caso dell’elettroceutica che si pone l’obiettivo di modulare l’attività della corteccia cerebrale mediante magneti ad alto campo), e di ricerca, sia clinica che di base. L’attività comprende un servizio ambulatoriale di II° livello, con possibilità di eseguire tutti gli accertamenti clinici e strumentali necessari, e la successiva attivazione dei protocolli sperimentali. Nel corso del 2021, pur con le difficoltà legate alla pandemia da virus Sars-Cov2, sono stati condotti trial clinici di Fase II e III sia a livello nazionale che internazionale (europeo e globale) con i protocolli TUDCA, Stim-ALS, Alexion ed iniziato Mitsubishi Tanabe (edaravone orale) ed ADORE (edaravone orale). Sono stati anche poste le basi per partire nel 2022 con importanti studi internazionali di fase III Cytockinetics, Masitinib e Phoenix (Amylyx).

Tali protocolli hanno offerto la possibilità ai nostri Pazienti di partecipare allo studio di terapie nuove ed innovative. Il Centro SLA è diventato negli anni un Centro di riferimento con un’esperienza consolidata nell’ambito della ricerca scientifica, con pazienti afferenti da vari ospedali del Paese per partecipare ai numerosi Trial nazionali ed internazionali. Particolare attenzione è stata rivolta allo sviluppo di tecnologie alternative e da remoto per mantenere il rapporto ed il monitoraggio dei pazienti domiciliati.

L’attività Trial nel 2021 si è ampliata andando ad inserirsi anche nel mondo della terapia delle Cefalee ed in particolare dell’emicrania, partecipando a studi internazionali per il trattamento della stessa con innovativi farmaci (anticorpi anti CGRP) per il controllo di invalidità e dolore da essa generate (Studi PEARL, TRIUMPH).

L' ATTIVITÀ DEL CENTRO "DINO FERRARI" SI È ARTICOLATA NEL 2021 CON I SEGUENTI CENTRI:

CENTRO SCLEROSI LATERALE AMIOTROFICA (SLA)

Nell'anno 2021, oltre 250 pazienti affetti da patologia motoneuronale (prevalentemente SLA) sono stati esaminati nel Centro SLA. Alla valutazione clinica sono state accostate diverse indagini ed iniziative terapeutiche:

- ricerca di mutazioni nei geni ad oggi associati a SLA mediante utilizzo di metodologia next-generation sequencing (NGS) con l'utilizzo di un pannello genico da noi disegnato a scopo diagnostico (tecnologia Illumina) comprendente 24 geni causativi di SLA: *ALS2, ANG, CHMP2B, DCTN1, FUS, GRN, HNRNPA1, HNRNPA2B1, MAPT, MATR3, NEK1, OPTN, PFN1, SETX, SOD1, SPAST, SPG11, SQSTM1, TARDBP, TBK1, TUBA4A, UBQLN2, VAPB, VCP*. La presenza di sequenze ripetute espanse nel gene *C9orf72* è stata valutata a parte rispetto al pannello NGS mediante metodiche diverse (Fragment lenght analysis in fluorescenza e Repet-primed PCR). Il pannello NGS da noi utilizzato comprende anche geni causativi di altre malattie neurodegenerative in stretta sovrapposizione clinico-molecolare tra loro (Demenza frontotemporale, Malattia di Alzheimer, Amiloidosi cerebrale, Malattia di Parkinson), consentendo un più ampio e completo inquadramento diagnostico dei pazienti;
- sviluppo di nuovi parametri neurofisiologici per definizione del numero residuo di Unità Motorie (MUNE) ed analisi neurofisiologica della funzionalità diaframmatici per porre indicazione alla NIV;
- analisi delle caratteristiche nutrizionali con studio della PEG, BMI, etc, in collaborazione con l'Unità di Endocrinologia dell'IRCCS Istituto Auxologico Italiano;
- valutazione neuropsicologica longitudinale dei pazienti affetti da SLA mediante valutazioni seriate nel tempo al fine di evidenziare la presenza e l'evoluitività di specifici deficit cognitivi e/o comportamentali, tramite la somministrazione dello strumento di screening ECAS, messo a punto e validato nella sua versione italiana dal Servizio di Neuropsicologia e psicologia Clinica (Poletti et al., 2016);
- conduzione di trial terapeutici per la Sclerosi Laterale Amiotrofica

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.

CENTRO MALATTIA di PARKINSON E DISORDINI DEL MOVIMENTO

Nel corso dell'anno 2021, oltre 500 pazienti circa affetti da diversi disordini extrapiramidali del movimento (Morbo di Parkinson, Paralisi Sopranucleare Progressiva, Atrofia Multisistemica e Degenerazione Cortico-Basale, Corea di Huntington, ect.) sono stati esaminati e trattati presso il "Centro Disturbi del Movimento" che ha eseguito circa 1.500 visite ambulatoriali. È stata creata una stretta collaborazione con l'Associazione Parkinson Milano di cui il Prof. V. Silani fa parte del Comitato Scientifico creando un interscambio scientifico e di pazienti. È stata creata una équipe multispecialistica per la presa in carico del paziente. Il Centro è stato originariamente riconosciuto nell'ambito del NECTAR (Network for European CNS Transplantation and Regeneration) dedicato alle malattie extrapiramidali.

Il Centro offre la possibilità di accedere ad Ambulatorio di II livello in diverse sedi dell'Istituto Auxologico (Ospedale San Luca, poliambulatorio Procaccini, Poliambulatorio di Pioltello e di Meda) e di accedere a Day Hospital multispecialistico (Sede Ospedale San Luca).

Nel corso del 2021 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. I dati preliminari ottenuti sono in corso di pubblicazione.

Dal 2005 è presente un Centro dedicato alla Malattia di Huntington con creazione di una équipe plurispecialistica formata da neurologi, psichiatri, genetisti, neuropsicologi, logopedisti e fisiatristi 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 2020-21 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.

CENTRO DISTURBI COGNITIVI e DEMENZE (CDCD)

Nell'anno 2021 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 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) dell'Ospedale San Luca-Istituto Auxologico Italiano IRCCS, di cui è responsabile il Dott. F. Verde e che afferisce al Dipartimento di Neurologia diretto dal Prof. V. Silani, è riconosciuto dalla Regione Lombardia ed inserito nell'elenco dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS).

Il Centro è uno dei componenti dell'Istituto Virtuale Demenze, nel quale il Dott. F. Verde ricopre l'incarico di co-task leader del task "Clinica".

CENTRO CEFALÉE

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 1000 visite nell'anno 2021
- 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 2021 sono stati effettuati 90 trattamenti
- 3) TERAPIA CON TOSSINA BOTULINICA: Un totale di circa 110 pazienti, affetti da emicrania cronica e non responsivi ai comuni farmaci di profilassi, sono stati sottoposti ad infiltrazioni di tossina botulinica nel 2021
- 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.
- 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 105 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 di Sanità, con l'intento di definire con precisione l'epidemiologia, l'impatto sociale e il peso economico dell'emicrania cronica. La registrazione dei pz è iniziata nel 2021 e proseguirà per 5 anni
- 7) AGOPUNTURA-DIETA CHETOGENICA: La validità scientifica, supportata da numerose 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 2021 l'attività del Centro di Medicina del Sonno presso l'IRCCS Istituto Auxologico Italiano, Ospedale San Luca, diretto dalla Prof.ssa Lombardi.

Nello 2021 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 2021

Silani V., Corcia P., Harms M.B., Rouleau G., Siddique T., Ticozzi N.

Genetics of Primary Lateral Sclerosis.

AmyotrophicLateral Scler and Frontotemporal Degener, 2021. 21(sup1):28-34. doi: 10.1080/21678421.2020.1837177;

Moisse,M. Zwamborn R.A.J., van Vugt J., van der Spek R., van Rheenen W., Kenna B., Van eijk K., Kenna K., Corcia P., Couratier P., Vourch'h P., Hardiman O., McLaughlin R., Gotkine M., Drory V., Ticozzi N., Silani V., de Carvalho M., Mora Pardina J.S., Povedano M., Andersen P.M., Weber M., Basak N.A., Chen X., Eberle M.A., Al-Chalabi A., Shaw C., Shaw P.J., Morrison K.E., Landers J.E., Glass J.D., Robberecht W., van Es M., van den berg L., Veldink J., Van Damme P.,Project Mine Sequencing Consortium.

The effect of SMN gene dosage on ALS risk and disease severity.

Ann Neurol 89(4): 686-697, 2021. doi:10.1002/ana.26009;

Brugnioni R., Maggi L., Canioni E., Verde F., Gallone A., Ariatti A., Filosto M., Petrelli C., Logullo F.O., Ruggiero L., Tonin P., Riguzzi P., Pegoraro E., Torri F., Ricci G., Siciliano G., Silani V., Mariotti C., Moroni I., Mantegazza R., Bernasconi P.

Next generation sequencing application to investigate skeletal muscle channelopathies in a large cohort of Italian patients.

Neuromusc Disord 2021. doi: 10.1016/j.nmd.2020.12.003;

Castelnovo V., Canu E., Riva N., Poletti B., Cividini C., Fontana A., Solca F., Silani V., Filippi M., Agosta F.

Progression of cognitive and behavioral disturbances in motor neuron diseases assessed using standard and computer-based batteries.

Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener, 2021. doi: 10.1080/21678421.2020.186179;

Steinacker P., Feneberg E., Halbgebauer S., Witzel S., Verde F., Oeckl P., Van Damme P., Gaur N., Gray E., Grosskreutz J., harnd C.J., Kachanov M., Kuhle J., Lamari F., Maceski A., Amador M. del M., Mayer B., Morelli C., Petri S., Poesen K., Raaphorst J., Salachas F., Silani V., Turner M.R., Verbeek M.M., Volk A.E., Weishaupt J.H., Weydt P. M, Ludolph A.C., Otto M.

Chitotriosidase as biomarker for early stage amyotrophic lateral sclerosis: A multicenter study,

Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener 2021. doi: 10.1080/21678421.2020.1861023;

Picillo M., Ginevrino M., Dati G., Scannapieco S., vallelunga A., Siano P., Volpe G., Ceravolo R., Nicoletti V., Cicero E., Nicoletti A., Zappia M., Peverelli S., Silani V., Pellicchia M.T., Valente E.M., Barone P.

Genetic characterization of na cohort with familial parkinsonism and cognitive-behavioral syndrome: a Next generation Sequencing study.

Parkinsonism Relat Disord 82-90, 2021;

Ferrucci R., Dini M., Groppo E., Rosci C., Reitano M.R., Bai F., Poletti B., Brugnera A., Silani V., D'Arminio Monforte A., Priori A.

Long-lasting cognitive abnormalities after COVID-19.

Bain Sci 11, 235, 2021;

Shepherd SR, Parker MD, Cooper-Knock J, Verber NS, Tuddenham L, Heath P, Beauchamp N, Place E, Sollars ESA, Turner MR, Malaspina A, Fratta P, Hewamadduma C, Jenkins TM, McDermott CJ, Wang D, Kirby J, Shaw P., on behalf of the Project MINE Consortium.

Value of systematic genetic screening of patients with amyotrophic lateral sclerosis.

J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2021. doi: 10.1136/jnnp-2020-325014;

Tagini S., Solca F., Torre S., Brugnera A., Ciammola A., Mazzocco K., Ferrucci R., Silani V., Pravettoni G., Poletti B.

Counterfactual thinking in psychiatric and neurological diseases: A scoping review.

PLoS One 2021. doi: 10.1371/journal.pone.0246388;

Scotti L., Bassi L., Soranna D., Verde F., Silani V., Torsello A., Parati G., Zambon A.

Association between renin-angiotensinaldosterone system inhibitors and risk of dementia: a meta-analysis.

Pharmacol Res. 2021 Feb 23;105515. doi: 10.1016/j.phrs. 2021.105515;

Carelli L., Solca F., Migliore S., Torre S., Brugnera A., Mancini F., Tagini S., Ferrucci R., Maffi S., Ceccarelli C., Pasquini J., Sassone J., Squitieri F., Ciammola A., Silani V., Poletti B.

Compensating for verbal-motor deficits in neuropsychological assessment in movement disorders: sensitivity and specificity in the ECAS in Parkinson's and Huntington's diseases.

Neurol Sci 2021. doi: 0.1007/s10072-021-05169-3;

Pasquini J., Maremmanni C., Salvadori S., Silani V., Ticozzi N.

Testing olfactory impairment in acute and recovered COVID-19 patients: a single center study in Italy.

Neurol Sci 2021. doi: 10.1007/s10072-021-05200-7;

Tagini S., Brugnera A., Ferrucci R., Mazzocco K., Compare A., Silani V., Pravettoni G., Poletti B.

It won't happen to me! Psychosocial factors influencing risk perception for respiratory infectious diseases: A scoping review.

Appl Psychol Health Well-Being 2021. Doi.org/10.1111/aphw.12274;

Dalla Bella E., Bersano E., Antonini G., Borghero G., Capasso M., Caponnetto C., Chio A., Corbo M., Filosto M., Giannini F., Spataro R., Lunetta C., Mandrioli J., Messina S., Monsurro M.R., Mora G., Riva N., Rizzi R., Siciliano G., Silani V., Simone I., Soraru G., Tugnoli V., Verriello L., Volanti P., Furlan R., Nolan J.M., Abgueuen E., Tramacere I., Lauria G.

The unfolded protein response in amyotrophic lateral sclerosis: results of a phase 2 trial.

Brain 2021. doi: 10.1093/brain/awab167;

Lerario A., Girotti F., Sassone J., Poletti B., Ciammola A., Silani V.

Unilateral freezing of gait or "magnetic feet phenomenon" caused by ischemic lesion involving fronto-striatal networks.

Neurol Sci 2021. doi: 10.1007/s10072-021-05290-3;

Verde F. Otto M., Silani V.

Neurofilament light chain as biomarker for amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia.

Front Neurosci 2021. Jun 21;15:679199. doi: 10.3389/fnins.2021.679199. eCollection 2021;

Tagini S., Brugnera A., Ferrucci R., Mazzocco K., Pievani L., Priori A., Ticozzi N., Compare A., Silani V., Pravettoni G., Poletti B.

Attachment, personality and locus of control: psychological determinants of risk perception and preventive behaviors for COVID-19.

Frontiers Psychol 2021, 09 July. doi: 10.3389/fpsyg.2021.634012;

Tassorelli C., Silani V., Padovani A., Barone P., Calabresi P., Girlanda P., Lopiano L., Massacesi L., Monaco S., Onofri M., Tedeschi G., Berardelli A.

The contribution of the Italian Residents in Neurology to the COVID-19 crisis: admirable generosity but neurological training remains their priority.

Neurol Sci 2021. doi: 10.1007/s10072-021-05346-4;

Ratti A., Peverelli S., D'Adda E., Colombrita C., Gennuso M., Prella A., Silani V.

Genetic and epigenetic disease modifiers in an Italian C9orf72 family expressing ALS, FTD or PD clinical phenotypes.

Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener 2021. doi: 10.1080/21678421.2021.1962355;

Maraschi A., Gumina V., Dragotto J., Colombrita C., Monpean M., Buratti E., Laurens D., Silani V., Feligioni M., Ratti A.

SUMOylation regulates TDP-43 splicing activity and nucleocytoplasmic distribution.

Mol Neurobiol 2021. doi: 10.1007/s12035-021-02505-8;

Pregnotato F., Cova L., Doretto A., Bardelli D., Silani V., Bossolasco P.

Exome microRNA in Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Pilot Study.

Biomolecules 2021, 11, 1220. Doi: org/10.3390/biom11081220;

Halbgebauer S., Steinacker P., Verde F., Weishaupt J.H., Oeckl P., von Arnim C.A.F., Dorst J., Feneberg E., Mayer B.P., Rosenbohm A., Silani V., Ludolph A.C., Otto M.,

Comparison of CSF and serum neurofilament light and heavy chain as differential diagnostic biomarkers for ALS.

J Neurol Neurosurg Psychiatry 2021. doi:0. 1136 / jnnp-2021-327129;

Greco L.C., Lizio A., Casiraghi J., Sansone V.A., Tremolizzo L., Riva N., Solca F., Torre S., Ticozzi N., Filippi M., Silani V., Poletti B., Lunetta C.

A preliminary comparison between ECAS and ALS-CBS in classifying cognitive-behavioural phenotypes in a cohort of non-demented amyotrophic lateral sclerosis patients.

J Neurol 2021. doi: 10.1007/s00415-021-10753-w;

Johnson J.O., Chia R., Miller D., Li R., Kumaran R., Abramzon Y., Alahmady N., Renton A.E., Topp S.D., Gibbs J.R., Cookson M.R., Sabir M.S., Dalgrad C.L., Troakes C., Jones A.R., Aleksey Shatunov A., Iacoangeli A., Khleifat A.A.; Ticozzi N., Silani V., Gellera C., Blair I.P., Dobson-Stone C., Kwok J.B., Bonkowski E.S., Palvadeau R., Tienari P.J., Morrison K.E., Shaw P.J., Ammar Al-Chalabi A., Brown R.H., Jr., Calvo A., Mora G., Al-Saif H., Gotkine M., Leigh F., Chang I. J., Perlman S.J., Glass I., Scott A.I., Shaw C.E., Basak A.N., Landers J.E., Chio' A., Crawford T.O., Smith B.N., Tarynor B.J. on behalf of the FALS sequencing Consortium;

The American Genome Center, the International ALS Genomics Consortium; and the ITALSGEN Consortium.

Jama Neurology 2021. doi: 10.1001/jamaneurol.2021.2598;

Castelnovo V., Canu E., Magno A., Basaia S., Riva N., Poletti B., Silani V., Filippi M., Agosta F.
Impaired recognition of disgust in amyotrophic lateral sclerosis is related to basal ganglia involvement.

Neuroimage 2021. doi: 10.1016/j.neuroimage.2021.102803;

Poletti B., Solca F., Carelli L., Diena A., Colombo E., Torre S., Maranzano A., Greco L., Cozza F., Lizio A., Ferrucci R., Verde F., Morelli C., Lunetta C., Silani V., Ticozzi N.

Association of clinically evident ocular movement abnormalities with motor, cognitive and behavioral features in patients with motor neuron disorders.

Neurology 2021. doi:10.1212/WNL.00000000000012774;

Spinelli E.G., Ghirelli A., Basaia S., Cividini C., Riva N., Canu E., Castelnovo V., Domi T., Magnani G., Caso F., Caroppo P., Prioni S., Rossi G., Tremolizzo L., Appollonio I., Silani V., Carrera P., Filippi M., Agosta F.

Structural MRI signature in genetic presentations of the frontotemporal dementia-motor neuron disease spectrum.

Neurology 2021. doi:

10.1212/WNL.00000000000012702;

Carelli L., Solca F., Tagini S., Verde F., Ticozzi N., Consonni M., Ferrucci R., Pravettoni G., Poletti B., Silani V.

Emotional processing and experience in Amyotrophic Lateral Sclerosis: a systematic and critical review.

Brain Sci 2021. doi: org/10.3390/brainsci11101356;

Iacoangeli A., Fogh I., Selvakadunco S., Topp S.D., Shatunov A., van Rheenen W., Al-Khleifat A., Opie-Martin S., Ratti A., Calvo A.; UK Brain Expression Consortium, Van Damme P., Robberecht W., Chio A., Dobson R.J., Hardiman O., Shaw C.E., van den Berg L.H., Andersen P.M., Smith B.N., Silani V., Veldink J.H., Breen G., Troakes C., Al-Chalabi A., Jones A.R. *SCFD1* expression quantitative trait loci in amyotrophic lateral sclerosis are differentially expressed. *Brain Commun* 2021. doi: 10.1093/braincomms/fcab236;

Carlomagno C., Bertazioli D., Gualerzi A., Picciolini S., Andrico M., Roda F., Meloni M., Banfi P.I., Verde F., Ticozzi N., Silani V., Messina E., Bedoni M.

Identification of the Raman salivary fingerprint of Parkinson's disease through the spectroscopic computational combinatory approach.

Front Neurosci 2021. doi: 10.3389/fnins.2021.704963;

van Rheenen W., van der Spek R.A.A., Bakker M.K., van Vugt J.J.F.A., Hop P.J., Zwamborn R.A.J., de Klein N., Westra H.J., Bakker O.B., Deelen P., Shireby G., Hannon E., Moisse M., Baird D., Restuadi R., Dolzhenko E., Dekker A.M., Gawor K., Westeneng H.J., Tazelaar G.H.P., van Eijk K.R., Kooyman M., Byrne R.P., Doherty M., Heverin M., Al Khleifat A., Iacoangeli A., Shatunov A., Ticozzi N., Cooper-Knock J., Smith B.N., Gromicho M., Chandran S., Pal S., Morrison K.E., Shaw P.J., Hardy J., Orrell R.W., Sendtner M., Meyer T., Başak N., van der Kooi A.J., Ratti A., Fogh I., Gellera C., Lauria G., Corti S., Cereda C., Sproviero D., D'Alfonso S., Soraru G., Siciliano G., Filosto M., Padovani A., Chio A., Calvo A., Moglia C., Brunetti M., Canosa A., Grassano M., Beghi E., Pupillo E., Logroscino G., Nefussy B., Osmanovic A., Nordin A., Lerner Y., Zabari M., Gotkine M., Baloh R.H., Bell S., Vourc'h P., Corcia P., Couratier P., Millecamps S., Meininger V., Salachas F., Mora Pardina J.S., Assialioui A., Rojas-Garcia R., Dion P.A., Ross J.P., Ludolph A.C., Weishaupt J.H., Brenner D., Freischmidt A., Bensimon G., Brice A., Durr A., Payan C.A.M., Saker-Delye S., Wood N.W., Topp S., Rademakers R., Tittmann L., Lieb W., Franke A., Ripke S., Braun A., Kraft J., Whiteman D.C., Olsen C.M., Uitterlinden A.G., Hofman A., Rietschel M., Cichon S., Nothen M.M., Amouyel P.; SLALOM Consortium; PARALS Consortium; SLAGEN Consortium; SLAP Consortium, Traynor B.J., Singleton A.B., Mitne Neto M., Cauchi R.J., Ophoff R.A., Wiedau-Pazos M., Lomen-Hoerth C., van Deerlin V.M.,

Grosskreutz J., Roediger A., Gaur N., Jork A., Barthel T., Theele E., Ilse B., Stubendorff B., Witte O.W., Steinbach R., Hubner C.A., Graff C., Brylev L., Fominykh V., Demeshonok V., Ataulina A., Rogelj B., Koritnik B., Zidar J., Ravnik-Glavač M., Glavač D., Stević Z., Drory V., Povedano M., Blair I.P., Kiernan M.C., Benyamin B., Henderson R.D., Furlong S., Mathers S., McCombe P.A., Needham M., Ngo S.T., Nicholson G.A., Pamphlett R., Rowe D.B., Steyn F.J., Williams K.L., Mather K.A., Sachdev P.S., Henders A.K., Wallace L., de Carvalho M., Pinto S., Petri S., Weber M., Rouleau G.A., Silani V., Curtis C.J., Breen G., Glass J.D., Brown R.H. Jr., Landers J.E., Shaw C.E., Andersen P.M., Groen E.J.N., van Es M.A., Pasterkamp R.J., Fan D., Garton F.C., McRae A.F., Davey Smith G., Gaunt T.R., Eberle M.A., Mill J., McLaughlin R.L., Hardiman O., Kenna K.P., Wray N.R., Tsai E., Runz H., Franke L., Al-Chalabi A., Van Damme P., van den Berg L.H., Veldink J.H.

Common and rare variant association analyses in amyotrophic lateral sclerosis identify 15 risk loci with distinct genetic architectures and neuron-specific biology.

Nat Genet 2021.doi:10.1038/s41588-021-00973-1;

Bocci T., Campiglio L., Silani V., Berardelli A., Priori A.

A nationwide survey on clinical neurophysiology education in Italian schools of specialization in neurology.

Neurol Sci 2021. doi: 10.1007/s10072-021-05641-0;

Delaby C, Teunissen CE, Blennow K, Alcolea D, Arisi I, Amar EB, Beaume A, Bedel A, Bellomo G, Bigot-Corbel E, Bjerke M, Blanc-Quintin MC, Boada M, Bousiges O, Chapman MD, DeMarco ML, D'Onofrio M, Dumurgier J, Dufour-Rainfray D, Engelborghs S, Esselmann H, Fogli A, Gabelle A, Galloni E, Gondolf C, Grandhomme F, Grau-Rivera O, Hart M, Ikeuchi T, Jeromin A, Kasuga K, Keshavan A, Khalil M, Körtvelyessy P, Kulczynska-Przybyk A, Laplanche JL, Lewczuk P, Li QX, Lleó A, Malaplate C, Marquié M, Masters CL, Mroczko B, Nogueira L, Orellana A, Otto M, Oudart JB, Paquet C, Paoletti FP, Parnetti L, Perret-Liaudet A, Peoc'h K, Poesen K, Puig-Pi Joan A, Quadrio I, Quillard-Muraine M, Rucheton B, Schraen S, Schott JM, Shaw LM, Suárez-Calvet M, Tsolaki M, Tumani H, Udeh-Momoh CT, Vaudran L, Verbeek MM, Verde F, Vermunt L, Vogelgsang J, Wiltfang J, Zetterberg H, Lehmann S.

Clinical reporting following the quantification of cerebrospinal fluid biomarkers in Alzheimer's disease: An international overview.

Alzheimers Dement. 2021 Dec 22. doi: 10.1002/alz.12545. Online ahead of print.

Totale I.F. 238.393

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

Il Prof. V. Silani è Presidente designato del 52° Congresso della Società Italiana di Neurologia (SIN) che si terrà a Milano il 3-6 Dicembre 2022.

Fondi Acquisiti nel corso del 2021

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	178.500,00

Tot. 1.003.650,00

Trial Terapeutici

Ente Finanziatore	Titolo	Valorizzazione in caso di arruolamento completo
Alexion Pharmaceuticals Inc.	Studio di fase 3, randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo, a gruppi paralleli, multicentrico, con una fase di estensione in aperto per valutare l'efficacia e la sicurezza di ravulizumab in pazienti affetti da sclerosi laterale amiotrofica (SLA)	€ 80.070,00

Eli Lilly and Company	Trattamento preventivo dell'emicrania: risultati su pazienti nei sistemi sanitari del mondo reale (TRIUMPH)	€ 27.555,00
Teva Pharmaceuticals Europe B.V.	Studio osservazionale Pan-Europeo sull'efficacia di fremanezumab nei pazienti con emicrania cronica o episodica nel mondo-reale: studio PEARL	€ 21.240,00
AB Science S.A.	Studio prospettico, multicentrico, randomizzato, in doppio cieco, controllato verso placebo, a gruppi paralleli, di fase III, per confrontare l'efficacia e la sicurezza di masitinib in combinazione con riluzolo versus placebo in combinazione con riluzolo nel trattamento di pazienti affetti da Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA)	€ 21.100,00
Mitsubishi Tanabe Pharma Development America, Inc	Studio di Fase 3b, multicentrico, randomizzato, in doppio cieco per valutare l'efficacia e la sicurezza di edaravone orale somministrato per un periodo di 48 settimane a soggetti con sclerosi laterale amiotrofica (SLA)	€ 25.930,00
Cytokinetics Inc.	Studio Clinico Multicentrico di Fase 3, in Doppio Cieco, Randomizzato, Controllato verso Placebo per Valutare l'Efficacia e la Sicurezza di Reldesemtiv in Pazienti Affetti da Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA)	€ 102.877,20
Ferrer Internacional S.A.	Studio multicentrico, randomizzato, in doppio cieco, controllato verso placebo, per valutare la sicurezza e l'efficacia di FAB122 in pazienti affetti da Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA)	€ 75.600,00
Amylyx Pharmaceuticals Inc.	Studio di fase III, multicentrico, randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo, volto a valutare la sicurezza e l'efficacia di AMX0035 rispetto al placebo per il trattamento di 48 settimane di pazienti adulti affetti da sclerosi laterale amiotrofica (SLA)	€ 45.120,00

Tot. 399.492,20

**LABORATORIO DI BIOLOGIA MOLECOLARE, CITOGNETICA, ANALISI
BIOCHIMICO-CLINICHE, BIOINFORMATICA- IRCCS E. MEDEA- SEDE
DISTACCATA DEL CENTRO “DINO FERRARI”**

RESPONSABILE:

Dott. M.T. 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, Biologo Collaboratore

Dott. Luca Fumagalli, Biotecnologo

Dott. Fabiana Mambretti- Biotecnologo

PERSONALE TECNICO STRUTTURATO

Cinzia Baschiroto - tecnico di laboratorio IRCCS E. Medea

Luca Cesana - tecnico di laboratorio IRCCS E. Medea

Paola Pozzi - tecnico di laboratorio IRCCS E. Medea

L'attività di ricerca relativa all'anno 2021, del laboratorio di Genetica molecolare, Citogenetica e Bioinformatica, sezione distaccata del Centro Dino Ferrari, si è articolata su diversi filoni di ricerca già in corso. In particolare nell'ambito della Genetica molecolare è proseguita l'attività di screening genetico per l'identificazione del difetto molecolare di diversi gruppi di pazienti, nel contesto di progetti ministeriali ed extraministeriali in corso. Nel dettaglio sono state analizzate 6 famiglie con grave encefalopatie epilettiche, ritardo cognitivo medio – grave e anomalie alla risonanza encefalo e 7 casi con leucodistrofie o comunque quadri clinici a primario coinvolgimento della sostanza bianca. Nel primo gruppo i risultati di maggiore rilievo sono rappresentati dalla identificazione di mutazioni nei geni *SCN2A*, *DNM1* e *MPP5*. In particolare, per quest'ultimo caso, la mutazione in *MPP5* definisce una nuova forma di encefalopatia epilettica specificamente associata a questo gene. Per i restanti casi l'esoma ha dato un risultato sostanzialmente negativo.

Nel secondo gruppo di casi sono state identificate mutazioni nei geni *IFIH1* e *RNASEH2B* in due famiglie per le quali è quindi stata confermata la diagnosi di sindrome di Aicardi Gutierrez rispettivamente di tipo 1 e 2. Sono state identificate tre famiglie con sindrome di Pelizaeus Merzbacher con mutazioni nel gene *PLP1* ed 1 caso con mutazione in *TUBB4A*. È stata inoltre identificata una famiglia con Leucodistrofia ipomielinizzante relata al gene *PI4KA* o *SPG84*.

Parallelamente è proseguita la caratterizzazione delle basi molecolari del sottotipo di paraparesi spastica pura e complicata (*SPG76*). L'attività svolta si è concentrata sulla caratterizzazione molecolare e cellulare di una mutazione identificata nel gene *CAPN1* (*Calpaina 1*) associato ad una forma di paraparesi spastica, *SPG76*. Il lavoro condotto in vitro su modelli cellulari indicano che l'assenza di calpaina 1 in *SPG76*, insieme all'aumento dei livelli di calpaina 2, riduce l'attivazione del pathway di sopravvivenza Akt, riduce l'inibizione del fattore pro-apoptotico GSK3 β e induce un'eccessiva attivazione della risposta UPR, portando all'attivazione di CHOP e delle caspasi. Il lavoro proseguirà con l'obiettivo di identificare composti che possano portare al rescue dell'apoptosi in cellule *SPG76* modulando il signalling Akt/GSK3 β usando specifici inibitori.

Nell'ambito della ricerca relativa ai disordini del neurosviluppo è iniziato un filone di ricerca che combinando dati di genomica, trascrittomica ed il metiloma, è finalizzato alla caratterizzazione delle conseguenze funzionali e fenotipiche di variazioni strutturali (SV) non dichiaratamente patogeniche accertate durante l'iter diagnostico in bambini affetti da disordini del neurosviluppo. L'applicazione di WGS a coorti di pazienti con NDD ha dimostrato che un numero crescente di disordini costituzionali sono associati a SVs che alterano il numero di copie di elementi regolatori o modificano l'organizzazione 3D della cromatina e quindi l'espressione genica. In pratica si tratta di SVs che influenzano l'espressione di geni distanti dai punti di rottura causando l'insorgenza di determinati tratti fenotipici. Analogamente, l'applicazione di WES in pazienti con NDD ha dimostrato che un numero crescente di disordini è dovuto a varianti germinali in geni coinvolti nella regolazione della cromatina. In pratica si tratta di alterazioni della metilazione in siti specifici CpG che si trovano a monte di geni la cui espressione, aumentata o diminuita, impedisce il corretto sviluppo embrionale. Quindi l'indagine di “firme genomiche o epigenetiche” lungo l'intero genoma consente di identificare la causa funzionale di specifiche sindromi, permettendone il riconoscimento specialmente in quei casi dove la clinica risulta ambigua. Questo è particolarmente vero nelle traslocazioni bilanciate, cioè quella classe di SVs che non comportano la perdita o acquisizione di grosse porzioni di genoma e sono difficili se non impossibili da interpretare alla sola risoluzione delle analisi citogenetiche convenzionali, data anche la carenza di dati in letteratura. Per colmare il divario tra la struttura molecolare delle SV e l'effetto sul fenotipo, considerando i NDDs come vere e proprie malattie complesse, si vanno a riesaminare le variazioni strutturali refertate senza un chiaro significato clinico mediante una strategia omica, che combina dati di genomica, metiloma e trascrittomica. Nella medicina moderna, questo approccio olistico è ritenuto il più efficace per chiarire meccanismi e interazioni molecolari insospettite alla base di fenotipi malattia e potrebbe aprire la strada per scoprire nuove strategie di intervento che, anche se non guariscono il paziente, possono migliorare la performance e interazione sociale.

Per quanto riguarda la sezione di bioinformatica nel corso del 2021, 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. Sono stati perfezionati e/o sviluppati 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.

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 sono già stati individuati 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. Sono stati presi in considerazione un gruppo di soggetti con ADHD per i quali sono disponibili registrazioni EEG e NIRS contemporaneamente eseguite durante l'esecuzione di un task cognitivo. Analogamente stiamo studiando 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 ai metodi di fattorizzazione a tutti i 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 dei progetti sviluppati nel corso del 2021 presso il laboratorio di biologia molecolare citogenetica e bioinformatica:

- *Genetica delle Malattie neurologiche rare: modelli cellulari e meccanismi patogenetici- R corrente*
- *Un approccio omico per la caratterizzazione delle conseguenze funzionali e fenotipiche delle varianti genomiche strutturali rare nella disabilità del neurosviluppo e anomalie congenite- R corrente*
- *Studio evolutivo di conflitti genetici di interesse biomedico- R corrente*
Sottoprogetto - Analisi del significato funzionale dei siti selezionati positivamente nel genoma di HCMV- R corrente
- *Il ruolo della diversità genetica in EBV nella suscettibilità alla Sclerosi Multipla- prog 5X mille*

- *Multimodalità, intelligenza artificiale e big data: rianalisi, razionalizzazione e integrazione di basi dati raccolte in studi esistenti- prog 5X mille*
- *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).*
- *Functional and clinical studies of lipid linked hereditary spastic paraplegia- RF-2019-12370112*
- *The potential of Calpain2 as therapeutic target for SPG76- Bando AIVIPS*

Collaborazioni

Dott. FM Santorelli- Fondazione Stella Maris, Pisa

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

Estratto pubblicazioni

Barizzone Nadia*, Cagliani Rachele*, Basagni Chiara, Clarelli Ferdinando, Mendozzi Laura, Agliardi Cristina, Forni Diego, Tosi Martina, Mascia Elisabetta, Favero Francesco, Corà Davide, Corrado Lucia, Sorosina Melissa, Esposito Federica, Zuccalà Miriam, Vecchio Domizia, Liguori Maria, Comi Cristoforo, Comi Giancarlo, Martinelli Vittorio, Filippi Massimo, Leone Maurizio, Martinelli Boneschi Filippo, Caputo Domenico, Sironi Manuela, Guerini Franca Rosa[^], D'Alfonso Sandra[^] (2021);

An investigation of the role of common and rare variants in a large italian multiplex family of multiple sclerosis patients;

Genes, 12(10):1607 DOI: 10.3390/genes12101607 PMID: 34681001

Berretta Serena, Guida Elena, Forni Diego, Provenzi Livio (2021);

Glucocorticoid receptor gene (nr3c1) methylation during the first thousand days: environmental exposures and developmental outcomes;

Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 125:493-502 – Review DOI: 10.1016/j.neubiorev.2021.03.003 PMID: 33689802

Bertini Veronica, Giuliani Cecilia, Ferreri Maria Immacolata, Orsini Alessandro, Bonuccelli Alice, Peroni Diego, Bonaglia Maria Clara, Valetto Angelo (2021);

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, 34(17):2918-2922

DOI: 10.1080/14767058.2019.1670808 PMID: 31570022

Bonanni Paolo, Baggio Martina, Duma Gianmarco, Negrin Susanna, Danieli Alberto, Giorda Roberto (2021);

Developmental and epilepsy spectrum of poirier-bienvenu neurodevelopmental syndrome: description of a new case study and review of the available literature;

Seizure - European Journal of Epilepsy, 93:133-139

DOI: 10.1016/j.seizure.2021.10.019 PMID: 34740143

Carnovale Carla*, Lucenteforte Ersilia*, Battini Vera, Mazhar Faizan, Fornili Marco, Invernizzi Elena, Mosini Giulia, Gringeri Michele, Capuano Annalisa, Scavone Cristina, Nobile Maria, Vantaggiato Chiara, Pisano Simone, Bravaccio Carmela, Radice Sonia, Clementi Emilio[^], Pozzi Marco[^] (2021);

Association between the glyco-metabolic adverse effects of antipsychotic drugs and their chemical and pharmacological profile: a network meta-analysis and regression;

Psychological Medicine, in press

Cordani Ramona, Stagnaro Michela, Pisciotta Livia, Tiziano Francesco Danilo, Calevo Maria Grazia, Nobili Lino, IBAHC Consortium (Bassi Maria Teresa, Zucca Claudio), De Grandis Elisa (2021); *Alternating hemiplegia of childhood: genotype-phenotype correlations in a cohort of 39 italian patients;*

Frontiers in Neurology, 12:658451

DOI: 10.3389/fneur.2021.658451 PMID: 33897609

Craig Francesco*, Mascheroni Eleonora*, Giorda Roberto, Felling Maria Grazia, Bacco Maria Grazia, Castagna Annalisa, Tenuta Flaviana, Villa Marco, Costabile Angela, Trabacca Antonio, Montiroso Rosario (2021);

Exploring the contribution of proximal family risk factors on SLC6A4 DNA methylation in children with a history of maltreatment: a preliminary study;

International Journal of Environmental Research and Public Health, 18:12736

* Autori che hanno contribuito in ugual misura al lavoro

DOI: 10.3390/ijerph182312736 PMID: 34886461

D'Abrusco Fulvio, Arrigoni Filippo Silvio Aldo, Serpieri Valentina, Romaniello Romina, Caputi Caterina, Manti Filippo, Jovic-Jakubi Bosanka, Lucarelli Elisabetta, Panzeri Elena, Bonaglia Maria Clara, Chiapparini Luisa, Pichiecchio Anna, Pinelli Lorenzo, Righini Andrea, Leuzzi Vincenzo, Borgatti Renato, Valente Enza Maria (2021);

Get your molar tooth right: joubert syndrome misdiagnosis unmasked by whole-exome sequencing; **Cerebellum**, in press – Short Report

DOI: 10.1007/s12311-021-01350-8 PMID: 34846692

Della Vecchia Stefania, Tessa Alessandra, Dosi Claudia, Baldacci Jacopo, Pasquariello Rosa, Antenora Antonella, Astrea Guja, Bassi Maria Teresa, Battini Roberta, Casali Carlo, Cioffi Ettore, Conti Greta, De Michele Giovanna, Ferrari Anna Rita, Filla Alessandro, Fiorillo Chiara, Fusco Carlo, Gallone Salvatore, Germiniasi Chiara, Guerrini Renzo, Haggiag Shalom, Loperuolo Diego, Martinuzzi Andrea, Melani Federico, Mignarri Andrea, Panzeri Elena, Pini Antonella, Pinto Anna Maria, Pochiero Francesca, Primiano Guido, Procopio Elena, Renieri Alessandra, Romaniello Romina, Sancricca Cristina, Servidei Serena, Spagnoli Carlotta, Ticci Chiara, Rubegni Anna, Santorelli Filippo Maria (2021);

Monoallelic kifla-related disorders: a multicenter cross sectional study and systematic literature review;

Journal of Neurology, in press

DOI: 10.1007/s00415-021-10792-3 PMID: 34487232

Forni Diego, Cagliani Rachele, Arrigoni Federica, Benvenuti Martino, Mozzi Alessandra, Pozzoli Uberto, Clerici Mario, De Gioia Luca, Sironi Manuela (2021);

Adaptation of the endemic coronaviruses hcov-oc43 and hcov-229e to the human host; *Virus Evolution*, 7(2):1-11

DOI: 10.1093/ve/veab06 PMID: 34527284

Forni Diego, Cagliani Rachele, Pontremoli Chiara, Clerici Mario, Sironi Manuela (2021);

The substitution spectra of coronavirus genomes;

Briefings in Bioinformatics, in press

DOI: 10.1093/bib/bbab382 PMID: 34518866

Forni Diego, Cagliani Rachele, Pontremoli Chiara, Mozzi Alessandra, Pozzoli Uberto, Clerici Mario, Sironi Manuela (2021);

Antigenic variation of sars-cov-2 in response to immune pressure;

Molecular Ecology, 30(14):3548-3559

DOI: 10.1111/mec.15730 PMID: 33289207

Galitska Ganna, Coscia Alessandra*, Forni Diego*, Steinbrueck Lars*, De Meo Simone, Biolatti Matteo, De Andrea Marco, Cagliani Rachele, Leone Agata, Bertino Enrico, Schulz Thomas, Santoni Angela, Landolfo Santo, Sironi Manuela, Cerboni Cristina, Dell'Oste Valentina (2021);

Genetic variability of human cytomegalovirus clinical isolates correlates with altered expression of natural killer cell-activating ligands and ifn- γ ;

Frontiers in Immunology, 12:532484

DOI: 10.3389/fimmu.2021.532484 PMID: 33897679

Giovarelli Matteo*, Zecchini Silvia*, Catarinella Giorgia, Moscheni Claudia, Sartori Patrizia, Barbieri Cecilia, Roux-Biejat Paulina, Napoli Alessandra, Vantaggiato Chiara, Cervia Davide, Perrotta Cristiana, Clementi Emilio, Latella Lucia, De Palma Clara (2021);

Givinostat as metabolic enhancer reverting mitochondrial biogenesis deficit in duchenne muscular dystrophy;

Pharmacological Research, 170:105751

DOI: 10.1016/j.phrs.2021.105751 PMID: 34197911

Gonzalez-Candelas Fernando, Shaw Marie-Anne, Phan Tung, Kulkarni-Kale Urmila, Paraskevis Dimitrios, Luciani Fabio, Kimura Hirokazu, Sironi Manuela (2021);

One year into the pandemic: short-term evolution of sars-cov-2 and emergence of new lineages;

Infection, Genetics and Evolution, 92:104869 - Review

DOI: 10.1016/j.meegid.2021.104869 PMID: 33915216

Grumi Serena, Provenzi Livio, Accorsi Patrizia, Biasucci Giacomo, Cavallini Anna, Decembrino Lidia, Falcone Rossana, Fazzi Elisa, Gardella Barbara, Giaccherio Roberta, Guerini Paola, Grossi Elena, Magnani Maria Luisa, Mariani Eloisa Maria, Nacinovich Renata, Pantaleo Dario, Pisoni Camilla, Prefumo Federico, Sabatini Caterina, Scelsa Barbara, Spartà Maria Valentina, Spinillo Arsenio, Giorda Roberto, Orcesi Simona, Borgatti Renato, MOM-COPE Study Group (2021); *Depression and anxiety in mothers who were pregnant during the covid-19 outbreak in northern Italy: the role of pandemic-related emotional stress and perceived social support;*

Frontiers in Psychiatry, 12: 34539466

DOI: 10.3389/fpsyt.2021.716488 PMID: 34539466

Gumeni Sentiljana*, Vantaggiato Chiara*, Montopoli Monica, Orso Genny (2021);

Hereditary spastic paraplegia and future therapeutic directions: beneficial effects of small compounds acting on cellular stress;

Frontiers in Neuroscience, 15:660714 - Review

DOI: 10.3389/fnins.2021.660714 PMID: 34025345

Klionsky Daniel J., Abdel-Aziz Amal Kamal, Abdelfatah Sara, Abdellatif Mahmoud, Abdoli Asghar, Abel Steffen, et al...., Baba Misuzu, Backer Jonathan M., Backues Steven K., et al...., Vantaggiato Chiara, et al...., Zwerschke Werner, Brand-Saberi Beate, Dong X. Charlie, Kenchappa Chandra Shekar, Li Zuguo, Lin Yong, Oshima Shigeru, Rong Yueguang, Sluimer Judith C., Stallings Christina L., Tong Chun-Kit (2021);

Guidelines for the use and interpretation of assay for monitoring Autophagy (4th edition);

Autophagy, 17(1):1-382 - Review

DOI: 10.1080/15548627.2020.1797280 PMID: 33634751

Kuhn Jens H., Adkins Scott, Agwanda Bernard R., Al Kubrusli Rim, Alkhovsky Sergey V., Amarasinghe Gaya K., Avsic-Zupanc Tatjana, Ayllon Maria A., Bahl Justin, Balkema-Buschmann Anne, Ballinger Matthew J., Basler Christopher, Bavari Sina, Beer Martin, Bejerman Nicolas, Bennet Andrew J., Bente Dennis A., Bergeron Eric, Bird Brian H., Blair Carol D., Blasdell Kim R., Blystad Dag-Ragnar, Bojko Jamie, Borth Wayne B., Bradfute Steven B., Breyta Rachel, Briesche Michael, Brown Paul A., Brown Judith, Buchholz Ursula J., Buchmeier Michael J., et al., Simmonds Peter, Sironi Manuela, Smagghe Guy, Smither Sophie, Song Jin-Won, Spann Kirsten, Spengler Jessica R., Stenglein Mark D., Stone David M., Sugano Jari, et al., Zerbini F. Murilo, Zhai Lifeng, Zhang Yong-Zhen, Zhang Song, Zhang Jinguo, Zhang Zhe, Zhou Xueping (2021); 2021 *Taxonomic update of phylum negarnaviricota (riboviria: orthornavirae), including the large orders bunyavirales and mononegavirales;*

Archives of Virology, 166(12):3513-3566

DOI: 10.1007/s00705-021-05143-6 PMID: 34463877

Mariani Wigley Isabella Lucia Chiara*, Mascheroni Eleonora*, Fontana Camilla, Giorda Roberto, Morandi Francesco, Bonichini Sabrina, McGlone Francis, Fumagalli Monica, Montirosso Rosario (2021);

The role of maternal touch in the association between slc6a4 methylation and stress response in very preterm infants;

Developmental Psychobiology, 63(Suppl. 1):e22218
DOI: 10.1002/dev.22218 PMID: 34964498

Mazhar Faizan, Battini Vera, Gringeri Michele, Pozzi Marco, Mosini Giulia, Marran Albaraa Mohammed N., Akram Shahzad, Van Manen Robert P., Radice Sonia, Clementi Emilio, Carnovale Carla (2021);

The impact of anti-tnf α agents on weight-related changes: new insights from a real-world pharmacovigilance study using the fda adverse event reporting system (faers) database;

Expert Opinion on Biological Therapy, 21(9):1281-1290

DOI: 10.1080/14712598.2021.1948529 PMID: 34191656

Mazhar Faizan, Battini Vera, Pozzi Marco, Invernizzi Elena, Mosini Giulia, Gringeri Michele, Capuano Annalisa, Scavone Cristina, Radice Sonia, Clementi Emilio, Carnovale Carla (2021);
Hyponatraemia following antipsychotic treatment: in-silico pharmacodynamics analysis of spontaneous reports from the us food and drug administration adverse event reporting system database and an updated systematic review;

The International Journal of Neuropsychopharmacology, 24(6):477-489 - Review

DOI: 10.1093/ijnp/pyab005 PMID: 33575781

Minghetti Sara, Giorda Roberto, Mastrangelo Massimo, Tassi Laura, Zanotta Nicoletta, Galbiati Sara, Bassi Maria Teresa[^], Zucca Claudio[^] (2021);

Epilepsia partialis continua associated with thw p.arg403cys variant of the dnm1l gene: an unusual clinical progression with two episodes of super-refractory status epilepticus with a 13-year remission interval;

Epileptic Disorders, Clinical

DOI: 10.1684/epd.2021.1375 PMID: 34787083

Nobile Maria*, Maggioni Eleonora*, Mauri Maddalena, Garzitto Marco, Piccin Sara, Bonivento Carolina, Giorda Roberto, Girometti Rossano, Tomasino Barbara, Molteni Massimo, Fabbro Franco, Brambilla Paolo (2021);

Brain anatomical mediators of grin2b gene association with attention/hyperactivity problems: an integrated genetic-neuroimaging study;

Genes, 12(8):1193

* Autori che hanno contribuito in ugual misura al lavoro

DOI: 10.3390/genes12081193 PMID: 34440367

Nuovo Sara, Micalizzi Alessia, Romaniello Romina, Arrigoni Filippo Silvio Aldo, Ginevrino Monia, Casella Antonella, Serpieri Valentina, D'Arrigo Stefano, Briguglio Marilena, Salerno Grazia Gabriella, Rossato Sara, Sartori Stefano, Leuzzi Vincenzo, Battini Roberta, Ben-Zeev Bruria, Graziano Claudio, Mirabelli-Badenier Marisol, Brankovic Vesna, Nardocci Nardo, Spiegel Ronen, Petkovic Ramadza Danijela, Vento Giovanni, Marti Itxaso, Simonati Alessandro, Dipresa Savina, Freri Elena, Mazza Tommaso, Bassi Maria Teresa, Bosco Luca, Travaglini Lorena, Zanni Ginevra, Bertini Enrico, Vanacore Nicola, Borgatti Renato, Valente Enza Maria (2021);

Refining the mutational spectrum and gene-phenotype correlates in pontocerebellar hypoplasia: results of a multicentric study;

Journal of Medical Genetics, in press

DOI: 10.1136/jmedgenet-2020-107497 PMID: 34085948

Peri Anna Maria, Cagliani Rachele, Bozzi Giorgio, Pompa Alessandra, Manganaro Lara, Baldini Luca, Gori Andrea, Bandera Alessandra (2021);

Chromosomally integrated human herpesvirus 6 (ci-hhv-6) in autologous bone marrow transplant recipients: are we missing a reactivation or is it just mimicking?;

Journal of Clinical Virology, 139:104823 - Letter to the Editor

DOI: 10.1016/j.jcv.2021.104823 PMID: 33910132

Pontremoli Chiara, Forni Diego, Clerici Mario, Cagliani Rachele, Sironi Manuela (2021);
Alternation between taxonomically divergent hosts is not the major determinant of flavivirus evolution;

Virus Evolution, 7(1):veab040

DOI: 10.1093/ve/veab040 PMID: 33976907

Pontremoli Chiara, Forni Diego, Pozzoli Uberto, Clerici Mario, Cagliani Rachele, Sironi Manuela (2021);

Kinetochore proteins and microtubule-destabilizing factors are fast evolving in eutherian mammals;
Molecular Ecology, 30(6):1505-1515

DOI: 10.1111/mec.15812 PMID: 33476453

Provenzi Livio, Grumi Serena, Altieri Lilia, Bensi Giulia, Bertazzoli Emanuela, Biasucci Giacomo, Cavallini Anna, Decembrino Lidia, Falcone Rossana, Freddi Anna, Gardella Barbara, Giaccherio Roberta, Giorda Roberto, Grossi Elena, Guerini Paola, Magnani Maria Luisa, Martelli Paola, Motta Mario, Nacinovich Renata, Pantaleo Dario, Pisoni Camilla, Prefumo Federico, Riva Laura, Scelsa Barbara, Spartà Maria Valentina, Spinillo Arsenio, Vergani Patrizia, Orcesi Simona, Borgatti Renato, *MOM-COPE study group (citterio andrea, mambretti fabiana)* (2021);

prenatal maternal stress during the covid-19 pandemic and infant regulatory capacity at 3 months: a longitudinal study;

Development and Psychopathology, in press

DOI: 10.1017/S0954579421000766 PMID: 34210369

Provenzi Livio, Mambretti Fabiana, Villa Marco, Grumi Serena, Citterio Andrea, Bertazzoli Emanuela, Biasucci Giacomo, Decembrino Lidia, Falcone Rossana, Gardella Barbara, Longo Maria Roberta, Nacinovich Renata, Pisoni Camilla, Prefumo Federico, Orcesi Simona, Scelsa Barbara, Giorda Roberto, Borgatti Renato (2021);

Hidden pandemic: covid-19-related stress, slc6a4 methylation, and infants' temperament at 3 months;

Scientific Reports, 11(1):15658

DOI: 10.1038/s41598-021-95053-z PMID: 34341434

Raviglione Federico, Douzgou Sofia, Scala Marcello, Mingarelli Alessia, D'Arrigo Stefano, Freri Elena, Darra Francesca, Giglio Sabrina, Bonaglia Maria Clara, Pantaleoni Chiara, Mastrangelo Massimo, Epifanio Roberta, Elia Maurizio, Saletti Veronica, Morlino Silvia, Vari Maria Stella, De Liso Paola, Pavaine Julija, Spaccini Luigina, Cattaneo Elisa, Gardella Elena, Moller Rikke S., Marchese Francesca, Colonna Clara, Gandioli Claudia, Gobbi Giuseppe, Ram Dipak, Palumbo Orazio, Carella Massimo, Germano Michele, Tonduti Davide, De Angelis Diego, Caputo Davide, Bergonzini Patrizia, Novara Francesca, Zuffardi Orsetta, Verrotti Alberto, Orsini Alessandro, Bonuccelli Alice, De Muto Maria Carmela, Trivisano Marina, Vigeveno Federico, Granata Tiziana, Dalla Bernardina Bernardo, Tranchina Antonia, Striano Pasquale (2021);

Electroclinical features of mef2c haploinsufficiency-related epilepsy: a multicenter european study; seizure –

European Journal of Epilepsy, 88:60-72

DOI: 10.1016/j.seizure.2021.03.025 PMID: 33831796

Romaniello Romina, Arrigoni Filippo Silvio Aldo, De Salvo Patrizia, Bonaglia Maria Clara, Panzeri Elena, Bassi Maria Teresa, Parazzini Cecilia, Righini Andrea, Borgatti Renato (2021);

Long-term follow-up in a cohort of children with isolated corpus callosum agenesis at fetal mri;

Annals of Clinical and Translational Neurology, 8(12):2280-2288

DOI: 10.1002/acn3.51484 PMID: 34850608

Romaniello Romina, Citterio Andrea, Panzeri Elena, Arrigoni Filippo Silvio Aldo, De Rinaldis Marta, Trabacca Antonio, Bassi Maria Teresa (2021);

Novel sptbn2 gene mutation and first intragenic deletion in early onset spinocerebellar ataxia type 5;

Annals of Clinical and Translational Neurology, 8(4):956-963

DOI: 10.1002/acn3.51345 PMID: 33756041

Roux-Biejat Paulina, Coazzoli Marco, Marrazzo Pasquale, Zecchini Silvia, Di Renzo Ilaria, Prata Cecilia, Napoli Alessandra, Moscheni Claudia, Giovarelli Matteo, Barbalace Maria Cristina, Catalani Elisabetta, Bassi Maria Teresa, De Palma Clara, Cervia Davide, Malaguti Marco, Hrelia Silvana, Clementi Emilio, Perrotta Cristiana (2021);

Acid sphingomyelinase controls early phases of skeletal muscle regeneration by shaping the macrophage phenotype;

Cells, 10:3028

DOI: 10.3390/cells10113028 PMID: 34831250

Sferruzza Giacomo, Del Bondio Andrea, Citterio Andrea, Vezzulli Paolo, Guerrieri Simone, Radaelli Marta, Martinelli Boneschi Filippo, Filippi Massimo, Maltecca Francesca, Bassi Maria Teresa, Scarlato Marina (2021);

U-fiber leukoencephalopathy due to a novel mutation in the taco1 gene;

Neurology-Genetics, 7(2):e573

DOI: 10.1212/nxg.0000000000000573 PMID: 33709035

Sironi Manuela§, Kaderali Lars§ (2021);

Bioinformatics algorithms and predictive models: the grand challenge in computational virology;

Frontiers in Virology, 1:684608 DOI: 10.3389/fviro.2021.684608 PMID: No su PubMed

Sonda Sonia, Pendin Diana§, Daga Andrea§ (2021);

Er morphology in the pathogenesis of hereditary spastic paraplegia;

Cells, 10:2870 - Review

DOI: 10.3390/cells10112870 PMID: 34831093

Villa Filippo Maria, Rosi Eleonora, Grazioli Silvia, Mauri Maddalena, Giorda Roberto, Brambilla Paolo, Bonivento Carolina, Garzitto Marco, Molteni Massimo, Nobile Maria (2021);

Associations between genes methylation, postnatal risk factors and psychiatric symptoms in a clinical sample of children and adolescents: preliminar results from remind longitudinal study; Abstract O154 of the 29th European Congress of Psychiatry (EPA), April 2021;

European Psychiatry, 64(S1):S123-S124

DOI: 10.1192/j.eurpsy.2021.347

“Centro Dino Ferrari”
Il Coordinatore Scientifico
Prof. Nereo Bresolin

