



Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca  
Direzione Generale per il coordinamento e lo sviluppo e della ricerca  
Ufficio III

Rendiconto complessivo di spesa Fondi 5 per mille ANNO 2015  
Enti della Ricerca Scientifica

Ente<sup>1</sup>: FONDAZIONE HUMANITAS PER LA RICERCA  
Codice fiscale: 97408620157  
Indirizzo sede legale: Via Manzoni, 113 – 20089 Rozzano (MI)  
Referenti (nominativo, telefono, e.mail)  
Danilo Petroni – 02/8224.2435 – [danilo.petroni@humanitas.it](mailto:danilo.petroni@humanitas.it)  
Stefania Ducoli – 02/8224.2414 – [stefania.ducoli@humanitas.it](mailto:stefania.ducoli@humanitas.it)

**RIEPILOGO RENDICONTI:**

Ruolo dell'infiammazione nelle disfunzioni sinaptiche in malattie neurologiche e psichiatriche	39.452,32
Progetto Smart Campus Microclima degli ambienti didattici di Humanitas University: Analisi del benessere ambientale e delle capacità di apprendimento in un gruppo di studenti	64.608,78
PROGETTO 1: Identificazione dei partner molecolari di MS4A4A, una nuova molecola di superficie espressa da macrofagi associati a tumore. PROGETTO 2: Espressione e ruolo della molecola TREM2 in microglia nel rimodellamento neuronale nella fase di sviluppo cerebrale. PROGETTO 3: L'inalazione di nanoparticelle caricate con peptidi migliora l'insufficienza cardiaca.	470.212,06
<b>TOTALE IMPORTI SINGOLI PROGETTI</b>	<b>574.273,16</b>
<b>TOTALE FONDI 5X1000 ANNO 2015</b>	<b>574.273,16</b>

VOCI DI SPESA	COSTO COMPLESSIVO	QUOTA FINANZIATA CON FONDI 5 PER MILLE
Personale di ricerca (borsista, a contratto e di ruolo in quota parte)	164,898.12	164,898.12
Apparecchiature (ammortamento, canone di locazione/leasing)	334,215.87	334,215.87

<sup>1</sup> Istituzione beneficiaria del contributo del 5 per mille.

Materiale d'uso destinato alla ricerca (per laboratori di ricerca, ecc.)	22,952.52	22,952.52
Spese di organizzazione (manifestazioni e convegni, viaggi, missioni ecc.)		-
Elaborazione dati		-
Spese amministrative (10% dei costi diretti)	52,206.65	52,206.65
Altro (indicare quali)		-
<b>TOTALE</b>	<b>574,273.16</b>	<b>574,273.16</b>

Data 19/11/2018

Il Legale Rappresentante

Si autorizza al trattamento dei dati ai sensi del d.lgs. 196/2003

Il Legale Rappresentante





Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca  
Direzione Generale per il coordinamento e lo sviluppo e della ricerca  
Ufficio III

Rendiconto di spesa Fondi 5 per mille ANNO 2015  
Enti della Ricerca Scientifica

Ente<sup>1</sup>: FONDAZIONE HUMANITAS PER LA RICERCA

Codice fiscale: 97408620157

Indirizzo sede legale: Via Manzoni, 113 – 20089 Rozzano (MI)

Referenti (nominativo, telefono, e.mail)

Danilo Petroni – 02/8224.2435 – [danilo.petroni@humanitas.it](mailto:danilo.petroni@humanitas.it)

Stefania Ducoli – 02/8224.2414 – [stefania.ducoli@humanitas.it](mailto:stefania.ducoli@humanitas.it)

**Progetto:**

“Ruolo dell’infiammazione nelle disfunzioni sinaptiche in malattie neurologiche e psichiatriche”

**Attività:**

Per verificare la possibilità che l' attivazione immunitaria prenatale possa avere conseguenze deleterie sullo sviluppo del sistema nervoso della prole, aumentando la suscettibilità a malattie neurologiche, abbiamo utilizzato modelli in vitro e in vivo e una ampia varietà di approcci sperimentali, che vanno dall'analisi confocale della sinapsi (analisi della presinapsi e delle spine dendritiche), all'imaging per il calcio ed elettrofisiologia, fino all'analisi anatomica in vivo e allo studio comportamentale. I principali risultati ottenuti sono qui riassunti:

- 1) Allo scopo di definire se la riduzione dei livelli di specifiche proteine del sistema immune impatti lo sviluppo cerebrale e la connettività neuronale, abbiamo utilizzato un ceppo di topi geneticamente privi della proteina Tir-8, dove l'attivazione delle vie dell'interleuchina 1beta (IL1b) e dei toll-like receptors (TLRs) risulta aumentata in conseguenza dell'assenza della proteina, che svolge normalmente un ruolo inibitorio. Abbiamo dimostrato che i neuroni dei topi Tir-8KO mostrano una ridotta densità di spine mature, minore differenziamento postsinaptico e risultano incapaci di andare incontro ai processi di potenziamento a lungo termine. Abbiamo anche dimostrato che l'effetto è mediato dalla iperattivazione del recettore per l'IL1b e che il processo coinvolge la via di mTOR. Il difetto nella morfologia delle spine è visualizzabile sia in vivo che in coltura. Abbiamo infine dimostrato che il trattamento con l'antagonista del recettore per l'IL1b (anakinra) è in grado di recuperare il fenotipo delle spine dendritiche e di ristabilire i processi di plasticità sinaptica (Tomasoni et al., manoscritto sottomesso per la pubblicazione).
- 2) Come previsto nel progetto, abbiamo sottoposto topoline wild type gravide a GD9 a un singolo trattamento con poly I:C (un attivatore del TLR3) e abbiamo successivamente analizzato la prole adulta (3 mesi). Abbiamo dimostrato che la prole mostra difetti nel comportamento (in particolare presenta deficit cognitivi e sociali) e risulta più suscettibile all'epilessia. Abbiamo anche dimostrato che il cervello è caratterizzato da un aumento della permeabilità della barriera ematoencefalica e da uno sbilanciamento della neurotrasmissione eccitatoria-inibitoria (Corradini, Rasile et al., manoscritto in preparazione).
- 3) Abbiamo quindi esposto colture neuronali primarie preparate da topi WT a specifiche citochine infiammatorie, in particolare IL-6. In tali colture abbiamo studiato la formazione e la

<sup>1</sup> Istituzione beneficiaria del contributo del 5 per mille.



funzione sinaptica tramite microscopia ed elettrofisiologia, valutando possibili alterazioni dell'espressione di proteine sinaptiche. Abbiamo dimostrato che l'esposizione a IL-6 durante lo sviluppo neuronale aumenta selettivamente la formazione delle sinapsi eccitatorie, mentre le sinapsi inibitorie non vengono modificate. Questo processo rende la rete neuronale più eccitabile. Per verificare se l'effetto di IL-6 sulla sinaptogenesi eccitatoria fosse visualizzabile anche in vivo, abbiamo sottoposto topoline wt gravide a GD16 a una singola iniezione con IL-6 e abbiamo quindi analizzato la formazione delle sinapsi nel cervello della progenie 15 giorni dopo la nascita. Anche in questo caso abbiamo potuto verificare l'aumento della sinaptogenesi eccitatoria (Pozzi et al., manoscritto in preparazione).

Questi dati mostrano una correlazione diretta tra stimoli infiammatori e difetti sinaptici e aprono la possibilità di nuove forme di trattamento delle malattie neurologiche attraverso la modulazione del sistema immunitario.

### **5X1000 ANNO 2018**

Nel corso del 2018 il gruppo ha dato due importanti contributi che dimostrano in modo inequivocabile che il sistema immunitario è in grado di regolare la funzione della sinapsi e che possibili difetti in tale processo possono portare a patologie del cervello.

Abbiamo dimostrato che il recettore immune TREM2, espresso nelle cellule microgliali e associato a un maggior rischio di malattia di Alzheimer, è essenziale per il processo di eliminazione e affinamento sinaptico durante le prime fasi dello sviluppo del cervello. L'assenza di TREM2 determina una compromissione dell'eliminazione della sinapsi, accompagnata da una maggiore neurotrasmissione eccitatoria e una ridotta connettività funzionale a lungo raggio. I topi privi di TREM2 mostrano comportamenti ripetitivi e difetti della socialità. Abbiamo inoltre dimostrato che i livelli di proteina TREM2 sono negativamente correlati con la gravità dei sintomi negli esseri umani affetti da autismo. Questi dati rivelano il ruolo di TREM2 nella formazione dei circuiti neuronali e forniscono le prove per il coinvolgimento del recettore nelle malattie del neurosviluppo (Filipello F, Morini R, Starvaggi C, Canzi A, Corradini I, Erreni M, Otero K, Piccio L, Perrucci F, Tamborini M, Rajendran L, Menna E, Vetrano S, Michalski B, Fahnstock M, Paolicelli R, Matteoli M (2018) The microglial innate immune receptor TREM2 is required for neuronal synapse elimination. *Immunity* 48(5):979-991 (IF 22.84)

Abbiamo dimostrato che la molecola immunitaria pentraxin 3 (PTX3) è espressa nel cervello murino in via di sviluppo. PTX3 svolge un ruolo chiave nel promuovere sinapsi del sistema nervoso centrale funzionalmente attivo, aumentando i livelli di superficie e il clustering sinaptico dei recettori del glutammato AMPA (Fossati G, Pozzi D, Canzi A, Valentino S, Mirabella F, Morini F, Ghirardini E, Filipello F, Moretti M, Gotti C, Annis DA, Mosher DF, Garlanda C, Bottazzi B, Tarabozzi G, Mantovani A, Matteoli M\* and Menna E\* The innate immune molecule PTX3 enhances the synaptic content of AMPA receptors via extracellular matrix remodeling and beta1 integrin. *EMBO J* in press (IF 9,79).

Abbiamo infine raccolto in una review le conclusioni dei nostri studi svolti negli anni precedenti (anni 2015-2017) i quali, insieme a altri dati presenti in letteratura, dimostrano che la citochina pro-infiammatoria interleuchina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) può contribuire a uno stato patologico della sinapsi, generando difetti di memoria e di comportamento. In particolare, descriviamo tre percorsi specifici attraverso i quali l'IL-1 $\beta$  influenza (1) la formazione della sinapsi (2) la morfologia delle spine dendritiche e (3) il bilancio della neurotrasmissione eccitatoria / inibitoria. Abbiamo coniato il termine "immuno-sinaptopatie" per descrivere gli stati patologici conseguenti a questa disregolazione (Pozzi D, Menna E, Canzi A, Desiato G, Mantovani C and Matteoli M (2018) The communication between the immune and nervous systems: the role of IL-1beta in synaptopathies. *Frontiers Mol Neurosci* Apr 5;11:111. doi: 10.3389/fnmol.2018.00111 (IF 5.07).

Data di inizio progetto: 01/01/2016

Data di fine progetto: 31/12/2018



<b>VOCI DI SPESA</b>	<b>COSTO COMPLESSIVO</b>	<b>QUOTA FINANZIATA CON FONDI 5 PER MILLE ANNO 2014</b>
Personale di ricerca (borsista, a contratto e di ruolo in quota parte)	12,913.23	12,913.23
Apparecchiature		-
Materiale d'uso destinato alla ricerca (per laboratori di ricerca, ecc.)	22,952.52	22,952.52
Spese di organizzazione (manifestazioni e convegni, viaggi, missioni ecc.)		-
Elaborazione dati		-
Spese amministrative (10% dei costi diretti)	3,586.57	3,586.57
Altro (indicare quali)		
<b>TOTALE</b>	<b>39,452.32</b>	<b>39,452.32</b>

Data 19/11/2018

Il Legale Rappresentante



Si autorizza al trattamento dei dati ai sensi del d.lgs. 196/2003

Il Legale Rappresentante







**Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca**  
**Direzione Generale per il coordinamento e lo sviluppo e della ricerca**  
**Ufficio III**

**Rendiconto di spesa Fondi 5 per mille ANNO 2015**  
**Enti della Ricerca Scientifica**

**Ente<sup>1</sup>: FONDAZIONE HUMANITAS PER LA RICERCA**

Codice fiscale: 97408620157

Indirizzo sede legale: Via Manzoni, 113 – 20089 Rozzano (MI)

Referenti (nominativo, telefono, e.mail)

Daniilo Petroni – 02/8224.2435 – [daniilo.petroni@humanitas.it](mailto:daniilo.petroni@humanitas.it)

Stefania Ducoli – 02/8224.2414 – [stefania.ducoli@humanitas.it](mailto:stefania.ducoli@humanitas.it)

**Progetto:**

“Progetto Smart Campus

Microclima degli ambienti didattici di Humanitas University: Analisi del benessere ambientale e delle capacità di apprendimento in un gruppo di studenti”

**Attività:**

E' noto che le attività di apprendimento scolastico svolte in ambiente indoor possono associarsi ad alterazioni dello stato di benessere e/o sintomi di affaticamento e scarse performance dovuti a parametri microclimatici e di qualità dell'aria respirata non ottimali. Secondo recenti studi clinici, la temperatura, l'umidità relativa e la ventilazione, indice di adeguato ricambio dell'aria, sono i principali determinanti del benessere in ambiente indoor. Nei moderni ambienti condizionati i parametri microclimatici vengono mantenuti entro un ambito ottimale e prestabilito in funzione del dispendio metabolico richiesto. Recenti studi hanno mostrato come i parametri spettrali ottenuti dall'analisi della variabilità della frequenza cardiaca si associno a diversi livelli di performance cognitiva aprendo pertanto la possibilità dell'utilizzo di tali indicatori per integrare le valutazioni tradizionali di attenzione e di performance cognitiva.

Metodi: Il seguente progetto si svolgerà su 35 studenti sani del corso di fisioterapia e avrà durata di due anni

**1° anno**

- a. Condizione microclimatica basale (20°-22° C). Valutazione dei cambiamenti spontanei di un parametro microclimatico (i.e.temperatura) nell'ambiente indoor di un'aula didattica nel corso di una lezione frontale standard di durata di un'ora. Valutazione del confort termico e degli indicatori di benessere soggettivo del personale che utilizza l'aula (studenti e docenti) stimati con questionario fornito all'inizio e alla fine della lezione.
- b. Condizione microclimatica modificata. Valutazione degli effetti di un incremento della temperatura di 2.0° C (24°-26°C) rispetto al basale sul confort termico, sul benessere soggettivo e sulle capacità di apprendimento degli utilizzatori.

<sup>1</sup> Istituzione beneficiaria del contributo del 5 per mille.



- c. Condizione microclimatica modificata. Valutazione degli effetti di un decremento della temperatura di 2.0° C (18°-20° C) rispetto al basale sul confort termico, sul benessere soggettivo e sulle capacità di apprendimento degli utilizzatori.

## **2° anno**

Verrà seguito il protocollo del primo anno, e verranno valutate le correlazioni tra parametri microclimatici, capacità di apprendimento e indicatori di modulazione simpatica e vagale della frequenza cardiaca ottenuti dall'analisi spettrale della variabilità della frequenza cardiaca durante la lezione in aula. 35 studenti del corso di Fisioterapia verranno sottoposti a registrazione in continuo dell'elettrocardiogramma per la durata di un'ora mediante dispositivi portatili e trasmissione dei dati per via telemetrica per l'analisi off-line. Valutazione della performance cognitiva mediante test relativi a capacità di memoria, concentrazione, ragionamento e pianificazione elaborati da Cambridge Brain Science (CBS).

Valutazione del profilo autonomico cardiaco:

- mediante quantificazione degli indicatori di modulazione simpatica (LFRR) e vagale (HFRR) diretti al cuore estratti dalla variabilità spontanea dell'intervallo RR e mediante l'indicatore sintetico di bilancia simpatovagale (LF/HF). Gli indicatori spettrali saranno ottenuti dall'analisi di periodi di circa 500 battiti per ciascuna condizione temporale (T0 e T1). Tali parametri saranno ottenuti dall'analisi dell'elettrocardiogramma ottenuto sugli studenti partecipanti alle lezioni.
- Mediante quantificazione degli indicatori 0V% e 2UV% espressione rispettivamente dell'attività modulatoria nervosa simpatica e vagale sul nodo senoatriale, ottenuti dall'analisi simbolica della variabilità dell'intervallo RR.

## **Stato di avanzamento dal 1.1.2018 al 30.09.2018**

Nel periodo indicato sono state eseguite 2 campagne con l'obiettivo di registrare per 2 ore, corrispondenti ad una lezione, l'ECG in continuo di 34 studenti del corso di Fisioterapia di Humanitas University, e di ottenere da loro i questionari di stato di benessere ed i risultati del Cognitive test eseguito collegandosi al sito dell'Università di Cambridge.

Ogni campagna è stata organizzata con l'obiettivo di ottenere 3 giorni di osservazione/campagna.

Campagna 1 (marzo 19, 23 e 26). La campagna è stata caratterizzata da due tipi di problemi tecnici che hanno lasciato una singola registrazione utilizzabile: a. l'impossibilità di ridurre la temperatura ambientale nell'ambito 18°-20°C durante la registrazione del 23/3 per un mal funzionamento del sistema di climatizzazione. b. impossibilità di incrementare a 24-26°C la temperatura ambientale sempre per un problema all'impianto di climatizzazione.

Per tali ragioni è stata utilizzata la registrazione in condizioni di microclima basale (20-22°C), che è stata utilizzata come baseline dei dati che verranno riportati qui sotto.

Campagna 2 (maggio 17, 22, 25). Anche in questo caso l'impianto di climatizzazione non è stato in grado di portare la temperatura ambientale a 18-20°C il giorno 25/5. Invece, nel giorno 17 maggio, programmato per la valutazione degli effetti di incremento della temperatura, si è raggiunto un valore di temperatura ambientale di 26.5°C, e tale registrazione è stata utilizzata per valutare gli effetti dell'innalzamento di temperatura (Day 2, vedi sotto )

## **Risultati preliminari.**

Sono stati confrontati i dati ottenuti in due giorni differenti caratterizzati da temperatura neutrale (20-22°C nominale, Day 1) e temperatura aumentata (24-26°C nominale, Day 2). La frequenza cardiaca (heart rate, HR) e l'indicatore simbolico di attività nervosa



simpatica diretta al cuore (0V%) sono risultati maggiori durante il Day 2 rispetto al Day 1, quando cioè le temperature ambientali erano più elevate. Un comportamento opposto si è evidenziato per l'indicatore di modulazione vagale cardiaca 2UV%. I punteggi di valutazione delle capacità mnemoniche e di comprensione verbale erano minori durante il Day 2 rispetto al Day 1, così come l'indicatore globale di performance cognitiva C. I dati preliminari, presentati al convegno annuale dell'American Autonomic Society (23-27 Ottobre 2018, Newport beach, CA, USA), vedi file allegato, suggeriscono che in condizioni di elevate temperature ambientali a fronte di un globale incremento dell'attività nervosa simpatica volta verosimilmente a compensare la vasodilatazione da calore, gli studenti presentano una performance cognitiva notevolmente ridotta. Esisterebbe cioè un disallineamento tra l'incremento di attività simpatica che normalmente si associa ad un aumento della performance cognitiva, come durante test mentale, e le performance cognitive che risultano invece parzialmente compromesse in questi studenti esposti a temperature elevate. I dati qui riassunti sono meglio evidenziabili nelle figure poster allegato.

Data di inizio progetto:	01/09/2017
Data di fine progetto:	31/12/2019

VOCI DI SPESA	COSTO COMPLESSIVO	QUOTA FINANZIATA CON FONDI 5 PER MILLE ANNO 2014
Personale di ricerca (borsista, a contratto e di ruolo in quota parte)	58,735.26	58,735.26
Apparecchiature		-
Materiale d'uso destinato alla ricerca (per laboratori di ricerca, ecc.)		-
Spese di organizzazione (manifestazioni e convegni, viaggi, missioni ecc.)		-
Elaborazione dati		-
Spese amministrative (10% dei costi diretti)	5,873.53	5,873.53
Altro (indicare quali)		
<b>TOTALE</b>	<b>64,608.78</b>	<b>64,608.78</b>



# Effects of different classroom temperatures on cardiac autonomic control and cognitive performances in students.

M. Minonzio<sup>1</sup>, F. Barbic<sup>1</sup>, B. Cairò<sup>2</sup>, D. Shiffer<sup>1</sup>, A. Dipasquale<sup>1</sup>, L. Cerina<sup>3</sup>, V. Urechie<sup>1</sup>, A. Vatteroni<sup>1</sup>, P. Verzeletti<sup>4</sup>, F. Badilini<sup>5</sup>, M. Veglio<sup>5</sup>, R. Iarhino<sup>1</sup>, A. Porta<sup>2,6</sup>, M. Santambrogio<sup>3</sup>, R. Gatti<sup>7,8</sup>, R. Furlan<sup>1,8</sup>

<sup>1</sup> Department of Internal Medicine, Humanitas Research Hospital, <sup>2</sup> Department of Biomedical Sciences – Humanitas University, Rozzano, Italy, <sup>3</sup> Department of Health, University of Milan, Milan, Italy, <sup>4</sup> Dipartimento di Informazione, Elettronica e Beni Culturali, Politecnico di Milano, Milan, Italy, <sup>5</sup> SAARPS-LLC, New York, NY, USA, <sup>6</sup> Department of Cardiovascular, Vascular Anesthesia and Intensive Care, IRCCS Policlinico San Donato, San Donato Milanese, Milan, Italy, <sup>7</sup> Service of Physiotherapy, Department of Biomedical Sciences – Humanitas University

## Background and Aim

Indoor microclimate may affect students' wellbeing, cardiac autonomic control and cognitive performance with potential impact on learning capabilities (Havenner-Shaughnessy et al., PLoS one 2015, 10:e0136165; Liu W, Lian Z et al., European Journal of applied physiology 2008, 103:361-366; Zhang F, Indoor air 2017, 27:78-93).

The aim of the present study was to assess the effects of classroom temperature variations on the autonomic profile and student's cognitive abilities.

## Methods

- Population and protocol:**
- 34 healthy students attending Humanitas University School of Physiotherapy, (15F, age 20±1yrs).
  - Single lead ECG continuous recording during 2-hour lectures.
  - Classroom temperature was set to "neutral" (20-22°C, Day1) and to 24-26°C (Day2).
  - Classroom temperature was remotely assessed every 5 minutes using a telemetry board.
- Cognitive Assessment**

- Cognitive performance was assessed at the end of the lecture using the online Cambridge Brain Science cognitive evaluation tool, developed by Cambridge University (<https://www.cambridgebrainsciences.com/science/tests>).
- **Reasoning:** ability to manipulate information according to logical rules;
  - **Short-term memory:** ability to actively hold information in the brain while working on it,
  - **Verbal ability:** capability to produce and comprehend information with specific meaning.
  - **C-Score** provided a quick snapshot of performance, made up of all cognitive domains addressed.

### Data Analysis:

Symbolic analysis of heart rate (HR) variability provided the percentage of sequences of three heart periods with no significant change in RR interval (0V%) and with two significant unlike variations (2UV%) reflecting cardiac sympathetic and vagal modulation, respectively. (Porta et al. IEEE Transactions on Bio-medical Engineering 2001; 48:1281-1291 and Guzzetti et al. Circulation 2005; 112:465-470).

## Conclusions

During Day 2, the greater HR and 0V% index are likely to indicate a cardiac sympathetic over-activity counteracting the potential vasodilation associated with enhanced environmental temperature. This autonomic response was, however, associated with a global reduced student's cognitive performances.

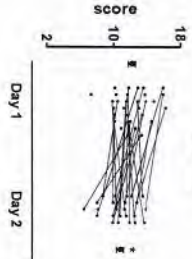
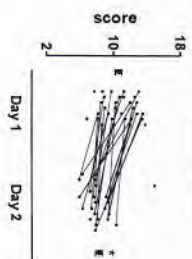
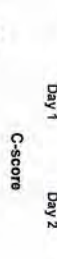
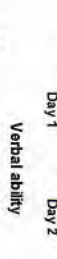
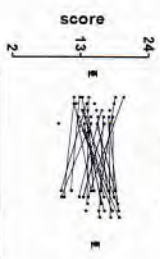
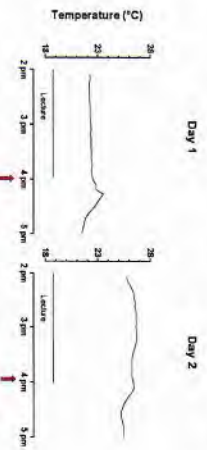
Acknowledgements: supported by a Grant from Fondazione Humanitas per la Ricerca

## Results

The HR and the index of cardiac sympathetic modulation were greater whereas the index of cardiac vagal modulation was lower during Day 2 compared to Day 1. Memory, verbal and overall cognitive C-score were lower during Day 2 compared to Day 1. Reasoning score was unchanged.

Measured	Day 1	Day 2
Temperature [°C]	22.4±0.3	26.2±0.5
Reasoning	15.0±2.4	15.4±2.9
Short-term memory	11.3±2.6*	10.3±1.6
Verbal ability	10.6±1.9*	8.2±1.8
C-Score	12.2±2.1*	10.7±1.9
HR [bpm]	73±12*	80±13
0V [%]	69.9±6.2*	74.6±6.5
2UV [%]	10.9±5.4*	7.9±3.9

\* p<0.03 Day 1 vs Day 2. Data are expressed as mean±SD





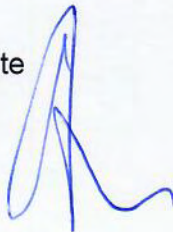
Data 19/11/2018

Il Legale Rappresentante

A handwritten signature in blue ink, consisting of a large, stylized initial 'R' followed by a horizontal line and a small upward stroke.

Si autorizza al trattamento dei dati ai sensi del d.lgs. 196/2003

Il Legale Rappresentante

A handwritten signature in blue ink, consisting of a large, stylized initial 'A' followed by a horizontal line and a small upward stroke.





**Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca  
Direzione Generale per il coordinamento e lo sviluppo e della ricerca  
Ufficio III**

**Rendiconto di spesa Fondi 5 per mille ANNO 2015  
Enti della Ricerca Scientifica**

**Ente<sup>1</sup>: FONDAZIONE HUMANITAS PER LA RICERCA**

Codice fiscale: 97408620157

Indirizzo sede legale: Via Manzoni, 113 – 20089 Rozzano (MI)

Referenti (nominativo, telefono, e.mail)

Danilo Petroni – 02/8224.2435 – [danilo.petroni@humanitas.it](mailto:danilo.petroni@humanitas.it)

Stefania Ducoli – 02/8224.2414 – [stefania.ducoli@humanitas.it](mailto:stefania.ducoli@humanitas.it)

**Progetto:**

**Progetto 1: IDENTIFICAZIONE DEI PARTNER MOLECOLARI DI MS4A4A, UNA NUOVA MOLECOLA DI SUPERFICIE ESPRESSA DA MACROFAGI ASSOCIATI A TUMORE**

**Attività:**

Il nostro laboratorio ha contribuito in maniera rilevante all'attuale comprensione del reclutamento e della funzione dei macrofagi associati a tumore (TAM) (Mantovani *et al*, Nature 2008; Balkwill e Mantovani, *Lancet* 2001; Biswas e Mantovani, Nature Immunol 2010). Recentemente, una nuova tetraspannina MS4A4A è stata identificata come molecola associata a macrofagi polarizzati M2 e TAM. Nel presente progetto, avvalendosi di dati preliminari, intendiamo sezionare il ruolo di MS4A4A nel contesto della funzione dei TAM. L'approccio includerà studi di espressione e identificazione di partner molecolari atti a condurre alla caratterizzazione di una molecola nuova e funzionalmente rilevante nella biologia dei TAM.

Un principale obiettivo sarà quello di estendere studi della regolazione e localizzazione di MS4A4A nei macrofagi. La spettroscopia correlata a fluorescenza verrà utilizzata pertanto per valutare fluttuazioni di intensità di fluorescenza che effettivamente quantificano processi di trasporto e di interazione in modelli cellulari esprimenti MS4A4A. Una principale caratteristica biologica delle tetraspannine è stabilire interazioni con diversi partner, tra cui integrine, lectine di tipo C, immunoglobuline e recettori G-accoppiati, che regolano attività di segnalazione, o le cosiddette zattere lipidiche ("lipid rafts"). Pertanto un secondo obiettivo sarà quello di identificare partner molecolari di MS4A4A. Saranno quindi studiate le eventuali interazioni di MS4A4A con i lipid rafts o altri eventuali interattori della membrana plasmatica dei macrofagi dopo polarizzazione M2. Mediante microscopia ottica a super-risoluzione ed analisi di FLIM-FRET verrà effettivamente studiata l'interazione fisica tra MS4A4A e marcatori tipici e/o molecole funzionali chiave dell'attività dei macrofagi.

<sup>1</sup> Istituzione beneficiaria del contributo del 5 per mille.



Per rendere possibile la realizzazione del progetto sopradescritto è stata acquisita la seguente strumentazione:

- microscopio a super-risoluzione Leica TCS SP8 STED 3X.
- modulo accessorio PicoQuant per Single Molecole Detection e FLIM-FRET analisi.

## **PROGETTO 2: ESPRESSIONE E RUOLO DELLA MOLECOLA TREM2 IN MICROGLIA NEL RIMODELLAMENTO NEURONALE NELLA FASE DI SVILUPPO CEREBRALE**

### **Attività:**

“TREM2 è un recettore immunitario innato microgliale associato a una forma letale di demenza precoce e progressiva, malattia Nasu-Hakola e con un aumentato rischio di malattia di Alzheimer. I difetti della microglia nella fagocitosi degli aggregati tossici o delle membrane apoptotiche sono stati proposti come all'origine dei processi patologici in presenza di mutazioni inattivanti del gene Trem2. In un lavoro recentemente pubblicato sulla rivista Immunity (Filipello et al., 2018), TREM2 è stato dimostrato essere essenziale per il raffinamento sinaptico mediato dalla microglia durante le prime fasi dello sviluppo del cervello. L'assenza di Trem2 in animali geneticamente modificati comporta una compromissione nell'eliminazione della sinapsi, accompagnata da una maggiore neurotrasmissione eccitatoria e una ridotta connettività funzionale a lungo raggio, associata a comportamenti ripetitivi e socievolezza alterata. In particolare, è stato utilizzato un approccio di microscopia confocale a super-risoluzione per valutare le interazioni microglia-neuroni e l'effetto della microglia sul rimodellamento neuronale. Una delle immagini prodotte è stata selezionata come copertina della rivista.

Per rendere possibile la realizzazione del progetto sopradescritto è stata acquisita la seguente strumentazione:

- microscopio a super-risoluzione Leica TCS SP8 STED 3X.”

### **Progetto:**

## **PROGETTO 3: L'INALAZIONE DI NANOPARTICELLE CARICATE CON PEPTIDI MIGLIORA L'INSUFFICIENZA CARDIACA**

### **Attività:**

I peptidi sono altamente selettivi ed efficaci per il trattamento di malattie cardiovascolari, tuttavia attualmente risulta una sfida tecnologica somministrare i peptidi per la terapia di targeting cardiaco tramite una procedura non invasiva. In un lavoro recentemente pubblicato sulla rivista Science Translational Medicine (Miragoli et al., 2018), è stato dimostrato in un modello animale che l'inalazione di piccole (<50 nm di diametro) nanoparticelle di fosfato di calcio biocompatibili e biodegradabili consente una rapida traslocazione di CaP dall'albero polmonare al sangue e al miocardio, dove il loro carico viene rapidamente rilasciato ripristinando la funzione cardiaca.

Nello specifico, abbiamo utilizzato una strumentazione per Optical in vivo Imaging per visualizzare in vivo la biodistribuzione e l'accumulo di nanoparticelle nel cuore dopo inalazione. Successivamente, in cardiomiociti isolati, abbiamo analizzato l'internalizzazione delle nanoparticelle mediante microscopia a super-risoluzione STED.

Per rendere possibile la realizzazione del progetto sopradescritto è stata acquisita la seguente strumentazione:

- optical in vivo Imaging system IVIS Lumina III + FMT;
- microscopio a super-risoluzione Leica TCS SP8 STED 3X.

Data di inizio progetto:

01/01/2016



Data di fine progetto:

31/12/2019

<b>VOCI DI SPESA</b>	<b>COSTO COMPLESSIVO</b>	<b>QUOTA FINANZIATA CON FONDI 5 PER MILLE ANNO 2014</b>
Personale di ricerca (borsista, a contratto e di ruolo in quota parte)	93,249.64	93,249.64
Apparecchiature	334,215.87	334,215.87
Materiale d'uso destinato alla ricerca (per laboratori di ricerca, ecc.)		-
Spese di organizzazione (manifestazioni e convegni, viaggi, missioni ecc.)		-
Elaborazione dati		-
Spese amministrative (10% dei costi diretti)	42,746.55	42,746.55
Altro (indicare quali)		
<b>TOTALE</b>	<b>470,212.06</b>	<b>470,212.06</b>

Data 19/11/2018

Il Legale Rappresentante



Si autorizza al trattamento dei dati ai sensi del d.lgs. 196/2003

Il Legale Rappresentante

