

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

Linea di ricerca n. 1 : Biomarkers Diagnostici e prognostici alla base delle malattie

1 : Organoidi e immuno-escape: un approccio innovativo per esplorare il cancro, identificare marcatori diagnostici e possibili biomarker di progressione neoplastica

Responsabile: CIARAMELLA VINCENZA

Programma:

Parole chiave: Medicina traslazionale, medicina partecipata, organoidi, microambiente tumorale, diagnosi precoce, biomarker

Altri enti coinvolti: Clinica Villa Fiorita (Aversa)

Anno inizio: 2025

Durata: 36

Tipologia: Clinico-Epidemiologica osservazionale

Area di interesse: Diagnostica

Project Classification IRG: Oncology 2 - Translational Clinical

Project Classification SS: Cancer Biomarkers - CBSS

Descrizione: Gli organoidi sono modelli tridimensionali multicellulari che replicano la struttura e la funzione degli organi umani, offrendo opportunità uniche per studiare malattie complesse come il cancro. Sono utilizzati per testare farmaci, identificare biomarcatori per diagnosi personalizzate e sviluppare terapie su misura, cruciali per la medicina personalizzata. Permettono anche di studiare il microambiente tumorale, fondamentale nella crescita e progressione del cancro, esplorando meccanismi come l'evasione immunitaria e la resistenza ai trattamenti. Studiare i fattori che contribuiscono allo sviluppo del tumore è fondamentale per migliorare diagnosi e trattamenti. Il focus sui meccanismi immunitari è essenziale, poiché il sistema immunitario gioca un ruolo centrale nella sorveglianza dei tumori. I modelli avanzati di co-cultura di organoidi e linfociti aiutano a studiare l'evasione immunologica e l'efficacia delle terapie immunologiche. Inoltre, la creazione di biobanche di organoidi potrebbe migliorare la comprensione dei meccanismi di immuno-escape e sviluppare trattamenti più mirati. Infine, le colture cellulari 3D hanno permesso di analizzare le interazioni tra cellule tumorali e cellule T, rivelando nuove molecole coinvolte nella risposta all'immunoterapia, specialmente nel cancro della mammella, uno dei tumori più difficili da trattare. Questo approccio potrebbe migliorare la prognosi e le opzioni terapeutiche.

Risultati e prodotti Risultati Attesi :

conseguiti:

- Sviluppo di strumenti diagnostici più precisi, grazie all'identificazione di biomarcatori con valore predittivo e prognostico
- Definizione di strategie terapeutiche personalizzate, in particolare per tumori come il carcinoma mammario, dove i trattamenti attuali sono spesso ostacolati da meccanismi di resistenza;
- Potenziamento dell'efficacia dell'immunoterapia, attraverso l'individuazione di nuovi bersagli per i checkpoint immunitari e la progettazione di terapie combinate più mirate;
- Promozione della medicina personalizzata, con una riduzione dell'approccio empirico nella scelta terapeutica e una minimizzazione degli effetti collaterali inutili.

Attività previste Un aspetto centrale della ricerca è lo studio dei checkpoint immunitari, molecole chiave che modulano la risposta immunitaria e che i tumori sfruttano per eludere il controllo del sistema immunitario. Analizzandone il ruolo, insieme ai processi infiammatori associati, è possibile individuare nuovi target terapeutici contro l'evasione immunitaria del cancro.

1. Co-cultura di organoidi tumorali con cellule del microambiente: Questo approccio permette di studiare le interazioni tra cellule tumorali e componenti del microambiente (fibroblasti, cellule immunitarie come T e NK, cellule endoteliali), per comprendere come influenzino la progressione tumorale.
2. Analisi genomica e trascrittomica: mira a identificare le alterazioni genetiche e trascrizionali che emergono dall'interazione tra tumore e microambiente, con potenziali implicazioni diagnostiche e prognostiche.
3. Induzione della senescenza in colture 2D e organoidi 3D: Si studiano gli effetti delle cellule senescenti sul sistema immunitario analizzando l'espressione di molecole infiammatorie con l'obiettivo di capire come queste cellule possano promuovere un ambiente immunosoppressivo e favorire la progressione tumorale.

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

- Background:** Organoids are three-dimensional multicellular systems that recapitulate the architecture and function of human organs, providing a powerful platform for investigating complex diseases such as cancer and autoimmune disorders. These models serve as valuable tools for drug screening, biomarker discovery for personalized diagnostics, and the development of patient-specific therapies, thereby playing a critical role in precision medicine. Additionally, organoids enable in-depth studies of the tumor microenvironment, which is instrumental in cancer initiation and progression, and facilitate the exploration of key mechanisms such as immune evasion, treatment resistance, and inflammatory processes.
- Hypothesis and Significance:** Understanding the factors driving tumor development is key to predicting its progression and improving diagnosis and treatment. Immune-related mechanisms are especially important, as the immune system plays a central role in tumor surveillance and response. Advanced co-culture models of organoids and lymphocytes provide a more physiologically relevant representation of the tumor microenvironment, enabling investigation of immune evasion mechanisms and the effectiveness of immunotherapies. The establishment of organoid biobanks derived from surgical specimens support the in-depth study of immunoescape and facilitates the development of more targeted therapies. Organoids have also made it possible to examine the interactions between tumor cells and T cells, leading to the identification of novel molecules involved in immunotherapy responses, particularly in breast cancer. This approach offers an accurate platform for studying cancer biology and has the potential to enhance diagnosis.
- Specific Aims:** We analyzed one of the major immune checkpoints, LAG-3, highlighting its role in breast cancer as a potential diagnostic marker. In future work, we will further investigate the interactions of LAG-3 with other immune escape-related molecules, such as TIM-3, CTLA-4, and PD-L1. Our aim is to study how these molecules interact with LAG-3 both in the context of tumor cell/T cell recognition and across different histological subtypes of breast cancer, which are key determinants of disease progression and treatment decisions.
- Expected outcomes:** This study can lead to:
- More accurate diagnostic tools through the identification of predictive and prognostic biomarkers;
 - Tailored therapeutic strategies, especially in cancers like breast cancer where current treatment options are often limited by resistance mechanisms;
 - Improved immunotherapy efficacy by revealing novel immune checkpoint targets and guiding combination therapy design;
 - Personalized medicine approaches, reducing trial-and-error in treatment selection and minimizing unnecessary side effects.
- Significance and Innovation:** A key aspect of this research is the in-depth investigation of immune checkpoints' molecules that play a central role in modulating immune responses and are often exploited by tumors to evade immune surveillance. By examining the role of these checkpoints and the associated inflammatory processes, it is possible to identify novel therapeutic targets to counteract cancer immune evasion.
- Translational relevance:** This project holds substantial translational potential for public health by bridging fundamental cancer biology with clinical applications. The use of patient-derived organoids as models to study immune evasion mechanisms offers a powerful platform to better understand tumor heterogeneity and immune interactions. Ultimately, by enhancing the precision and effectiveness of cancer diagnosis and treatment, this research could contribute to reduced healthcare costs, better patient outcomes, and a significant improvement in the management of cancer at the population level.

10 : Le cellule dell'immunità come nuova piattaforma diagnostica delle patologie neurodegenerative

Responsabile: Smaldone Giovanni

Programma:

Parole chiave: Immunità, Biomarker, Medicina partecipata, Malattie Neurodegenerative, diagnosi non invasiva

Altri enti coinvolti: - Dipartimento di Farmacia dell'Università Federico II di Napoli
- Dipartimento di Medicina, Chirurgia e Odontoiatria 'Scuola Medica Salernitana'

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

Anno inizio: 2025

Durata: 36

Tipologia: Clinico-Epidemiologica osservazionale

Area di interesse: Diagnostica

Project Classification IRG: Immunology

Project Classification SS: Innate Immunity And Inflammation - III

Descrizione: Negli ultimi anni, l'interazione tra sistema immunitario e sistema nervoso centrale (SNC) è emersa come un tema centrale nello studio delle malattie neurodegenerative. Cellule immunitarie periferiche come monociti, linfociti T e cellule NK mostrano alterazioni fenotipiche e funzionali in patologie quali Alzheimer, Parkinson e SLA. Le microglia, cellule residenti del SNC, insieme ai monociti circolanti che attraversano la barriera emato-encefalica, possono contribuire alla neuroinfiammazione cronica. Recenti studi indicano che il profilo molecolare delle cellule mononucleate del sangue periferico (PBMC) riflette lo stato infiammatorio cerebrale, aprendo alla possibilità di sviluppare biomarcatori periferici non invasivi. In particolare, gli oligomeri di a-sinucleina, forme tossiche coinvolte nella patogenesi del Parkinson, sono in grado di attivare le PBMC, inducendo risposte pro-infiammatorie e alterazioni molecolari. Inoltre, linfociti T di pazienti con Parkinson riconoscono epitopi a-syn, suggerendo un possibile meccanismo autoimmune. Il progetto mira a caratterizzare questi eventi per identificare nuovi biomarcatori immunitari e sviluppare strumenti diagnostici precoci, personalizzati e meno invasivi, attraverso l'integrazione di dati di caratterizzazione delle cellule immunitarie esposte all' a-syn, dosaggio ultra-sensibile di biomarker di infiammazione e di malattia e correlazione con i dati clinici dei pazienti.

Risultati e prodotti conseguiti: Si cercherà di ricostruire una signature di cellule immunitarie che reagiscono e si attivano all'esposizione con gli oligomeri di alfa sinucleina in soggetti affetti da malattie neurodegenerative quali il Parkinson in confronto a soggetti sani. Ad essa si correlerà la produzione di citochine pro-anti infiammatorie e la presenza nel siero/plasma di pazienti di alfa sinucleina, al fine di integrare tali informazioni per una valutazione non invasiva del decorso della patologia.

Attività previste: Recupero e biobanking di campioni di sangue da soggetti sani e pazienti affetti da malattie neuro-degenerative (Parkinson, Alzheimer). Stimolazione dei PBMC da pazienti con gli oligomeri di a-sinucleina responsabili della formazione degli accumuli amiloidi che determinano la patologia. Valutazione delle cellule che si attivano e che producono infiammazione mediante metodiche di citometria a flusso. Determinazione dei livelli di citochine pro e anti infiammatorie rilasciati dai PBMC dopo stimolazione con gli oligomeri. Analisi dei livelli di a-sinucleina nei campioni di sangue periferico dei pazienti PD mediante tecnologia SIMOA. Separazione delle componenti immunitarie maggiormente de-regolate mediante cell sorting e caratterizzazione delle stesse attraverso approcci omici single cell (single-cell RNAseq).

Background: In recent years, the interaction between the immune system and the central nervous system (CNS) has emerged as a key topic in the study of neurodegenerative diseases. Peripheral immune cells such as monocytes, T lymphocytes, and NK cells exhibit phenotypic and functional alterations in conditions like Alzheimer's, Parkinson's disease, and ALS. Microglia, the resident immune cells of the CNS, along with circulating monocytes that cross the blood-brain barrier, can contribute to chronic neuroinflammation. Recent studies indicate that the molecular profile of peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) reflects the cerebral inflammatory state, opening the possibility of developing non-invasive peripheral biomarkers. In particular, oligomers of a-synuclein-soluble, toxic forms of the protein implicated in Parkinson's pathogenesis are capable of activating PBMCs, inducing pro-inflammatory responses and molecular alterations. Furthermore, T lymphocytes from Parkinson's patients recognize a-syn-derived epitopes, suggesting a possible autoimmune mechanism. This project aims to characterize these events to identify novel immune biomarkers and develop early, personalized, and less invasive diagnostic tools, through the integration of immune cell profiling upon a-syn exposure, ultrasensitive quantification of inflammatory and disease biomarkers, and correlation with clinical patient data.

Hypothesis and Significance: We hypothesize that peripheral immune cells, particularly PBMCs, reflect central neuroinflammatory processes and respond specifically to a-synuclein oligomers, contributing to the pathogenesis of Parkinson's disease through pro-inflammatory and possibly autoimmune mechanisms. Detecting transcriptional and proteomic changes in these cells upon a-syn exposure may reveal novel, non-invasive biomarkers. The project is significant as it explores an accessible and personalized immunological platform for early diagnosis and monitoring of neurodegenerative diseases, offering a less invasive and more cost-effective alternative to current CSF or imaging-based biomarkers.

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

Specific Aims: Collection and biobanking of blood samples from healthy subjects and patients affected by neurodegenerative diseases (Parkinson's, Alzheimer's). Stimulation of patients' PBMCs with a-synuclein oligomers responsible for the formation of amyloid aggregates causing pathology. Evaluation of activated and inflammatory-producing cells using flow cytometry techniques. Measurement of pro- and anti-inflammatory cytokine levels released by PBMCs after stimulation with oligomers. Analysis of a-synuclein levels in peripheral blood samples of PD patients using SIMOA technology. Isolation of the most deregulated immune cell populations by cell sorting and characterization through single-cell omics approaches (single-cell RNA sequencing).

Expected outcomes: The project aims to reconstruct an immune cell signature that reacts and becomes activated upon exposure to a-synuclein oligomers in patients with neurodegenerative diseases such as Parkinson's, compared to healthy subjects. This signature will be correlated with the production of pro- and anti-inflammatory cytokines and the presence of a-synuclein in patients' serum/plasma, with the goal of integrating these data for a non-invasive assessment of disease progression.

Significance and Innovation: This project addresses the urgent need for non-invasive, early diagnostic tools for neurodegenerative diseases by leveraging the immune system as a biomarker source. It focuses on PBMCs as sensors of brain inflammation and their response to a-synuclein oligomers, key players in Parkinson's disease. The innovation lies in integrating ultrasensitive detection methods, immune cell profiling, and single-cell transcriptomics to uncover disease-specific immune signatures. By combining multi-omic approaches with AI-driven analysis, the project offers a novel, personalized, and accessible diagnostic strategy that may complement or replace current invasive and costly biomarkers.

Translational relevance: This project bridges basic immunology and clinical neurology by identifying peripheral immune signatures associated with neurodegeneration, particularly Parkinson's disease. By analyzing PBMC responses to a-synuclein oligomers, we aim to develop blood-based biomarkers that reflect CNS inflammation and disease progression. These findings could lead to accessible, minimally invasive diagnostic tools, enabling earlier detection and better patient stratification. The approach supports precision medicine by integrating molecular profiling and clinical data, paving the way for tailored therapeutic monitoring and improved clinical outcomes.

2 : Proteine Chromobox nel cancro del colon

Responsabile: GRIMALDI ANNA MARIA

Programma:

Parole chiave: cancro al colon, proteine chromobox, biomarcatori, diagnosi, prognosi

Altri enti coinvolti:

Anno inizio: 2025

Durata: 36

Tipologia: Clinico-Epidemiologica osservazionale

Area di interesse: Diagnostica

Project Classification IRG: Oncology 1 - Basic Translational

Project Classification SS: Molecular Oncogenesis - MONC

Descrizione: Il cancro del colon (CC) è il terzo tumore più diagnosticato e la seconda causa di morte per cancro a livello mondiale. Fumo, dieta squilibrata, alcol, sedentarietà e sovrappeso ne sono i principali fattori di rischio. Nei Paesi ad alto reddito, l'incidenza è in calo grazie a screening, rimozione delle lesioni precancerose e cambiamenti nello stile di vita; al contrario, nei Paesi in via di sviluppo i tassi aumentano, riflettendo abitudini alimentari occidentalizzate e l'incremento dell'obesità. Tuttavia, preoccupa l'aumento dei casi tra i giovani adulti, suggerendo un ruolo dell'esposizione precoce ai fattori di rischio.

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

La diagnosi precoce del CC è fondamentale per migliorare la prognosi, con tassi di sopravvivenza a 5 anni superiori al 90% negli stadi iniziali. Tuttavia, il 60% dei casi viene ancora identificato in fase avanzata, con elevata mortalità. Nonostante i progressi nella diagnosi e terapia, i meccanismi molecolari alla base del CC restano in parte sconosciuti. Tra i regolatori epigenetici coinvolti, le proteine chromobox (CBX) giocano un ruolo centrale nel controllo di processi come proliferazione, apoptosi e mantenimento delle cellule staminali. La loro disregolazione contribuisce all'oncogenesi attraverso l'alterazione di circuiti epigenetici. Restano irrisolte questioni chiave sui meccanismi alla base della deregolazione delle CBX, sulle loro interazioni nei complessi Polycomb e sul loro impatto nella progressione tumorale.

Risultati e prodotti conseguiti: I ruoli delle proteine CBX e il loro contributo nella tumorigenesi e progressione del CC restano, ad oggi, ancora in gran parte inesplorati. Pertanto, il seguente progetto si propone di analizzare l'espressione dei diversi membri della famiglia CBX nel CC, il loro potenziale utilizzo come marcatori diagnostici e prognostici di malattia e di approfondire la conoscenza di meccanismi epigenetici che li vedono coinvolti nel cancro del colon e più in generale nello sviluppo e nella proliferazione tumorale.

Il progetto si propone nell'immediato di analizzare l'espressione dei diversi membri della famiglia CBX nel CC, il loro potenziale utilizzo come marcatori diagnostici e prognostici di malattia. Lo studio di questa famiglia di proteine sarà condotto a più livelli, partendo dai più semplici modelli cellulari 2D, fino a gli organoidi tumorali derivati da pazienti affetti da CC. Questo approccio combinato consentirà di rispecchiare le caratteristiche molecolari del tumore di origine, includendo sia la componente cellulare tumorale che quella del suo microambiente. Partendo dall'analisi delle CBX upregolate, si approfondirà il ruolo biologico mediante esperimenti di silencing, per meglio comprenderne il coinvolgimento nella proliferazione tumorale. Lo studio dei profili di espressione e delle reti di CBX in modelli cellulari tumorali di CC, in tessuti di pazienti affetti da CC e in organoidi ex vivo derivati dagli stessi pazienti sarà fondamentale per delucidare il loro ruolo nella carcinogenesi e identificare potenziali bersagli terapeutici.

Attività previste Il progetto mira a chiarire il ruolo delle proteine CBX nell'insorgenza e progressione del CC, approfondendo i meccanismi epigenetici con cui regolano l'espressione genica e interagiscono con RNA non codificanti (ncRNA) e vie di segnalazione. Verrà esplorato il potenziale delle CBX come biomarcatori diagnostici, prognostici e possibili bersagli terapeutici. Saranno sviluppati modelli preclinici basati su organoidi, che permetteranno di riprodurre fedelmente il microambiente tumorale del CC, inclusi i ruoli di CBX e ncRNA. Si indagherà come le CBX influenzano la struttura della cromatina e regolano l'espressione genica attraverso interazioni specifiche con ncRNA, contribuendo a processi come proliferazione, resistenza ai trattamenti e metastasi. L'analisi mediante RNA sequencing permetterà di identificare i cambiamenti nell'espressione genica derivanti dalla manipolazione delle CBX e di correlare tali variazioni con ncRNA coinvolti nei meccanismi tumorali. Infine, il progetto esplorerà l'impatto delle CBX nel microambiente tumorale, focalizzandosi sulle interazioni con cellule stromali come fibroblasti, cellule endoteliali e immunitarie. Comprendere come le CBX modulano il microambiente potrà suggerire nuove strategie per migliorare l'efficacia terapeutica, anche attraverso la sua "normalizzazione". Nel complesso, il progetto offrirà nuove conoscenze sui circuiti epigenetici del CC, contribuendo allo sviluppo di modelli preclinici più precisi e utili per la medicina personalizzata.

Background: Colon cancer (CC) is the third most common cancer globally, causing over 600,000 deaths annually. Major risk factors include smoking, high meat and low fiber diets, alcohol consumption, lack of exercise, and obesity. In high-income countries, screening and lifestyle changes have reduced incidence, but cases are rising in developing nations due to Westernized diets and increasing obesity. Alarming, CC is also increasing in adults under 50, highlighting the impact of early-life exposure to risk factors. Understanding these trends is key to improving diagnosis and prevention. CC develops through stages from benign adenomas to metastatic adenocarcinoma, driven by genetic and epigenetic alterations. Early diagnosis dramatically improves outcomes: 90% of patients diagnosed at stages I-II survive at least five years, compared to only 10% at stages III-IV, which account for 60% of cases. Chromobox (CBX) proteins are crucial epigenetic regulators involved in development, stem cell maintenance, proliferation, and apoptosis. Their dysregulation contributes to cancer progression by altering key oncogenic pathways. Emerging therapies targeting CBX proteins show promising preclinical results. However, key questions remain about how CBX alterations affect Polycomb Repressive Complex activity and how CBX family interactions under physiological and pathological conditions influence cancer development and therapeutic strategies.

Hypothesis and Significance: What mechanisms determine CBX deregulation in cancer? How and to what extent do their aberrations influence Polycomb Repressive Complex activity in cancer? What are the interactions between CBX family members under normal, physiological and pathological conditions? How do these influence cancer progression

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

and potential future therapeutic options?

These are the unresolved questions on this interesting family of epigenetic interpreters.

This project aims to analyse the expression of different CBX family members in CC, their potential use as diagnostic and prognostic markers of disease, and to deepen knowledge of epigenetic mechanisms by which they are involved in colon cancer and tumour development and proliferation.

Specific Aims: The immediate aim is to analyse the expression of different CBX family members in CC and their potential use as diagnostic and prognostic markers of disease. The study of this family of proteins will be conducted at several levels, starting from the simplest 2D cell models, up to tumour organoids derived from CC patients. This combined approach will reflect the molecular characteristics of the tumour of origin, including both the tumour cellular component and its microenvironment. Starting from the analysis of upregulated CBX, the biological role will be investigated by silencing experiments to better understand its involvement in tumour proliferation. The study of CBX expression profiles and networks in 2D tumour cell models, tissues from DC-infected patients and ex vivo organoids derived from the same patients will be crucial to elucidate their role in carcinogenesis and to identify potential therapeutic targets.

Expected outcomes: Research on CBX in tumour initiation and development will help us understand how CBX proteins control gene expression and other processes that cause and spread CC. Since non-coding RNAs (ncRNAs) and signalling pathways regulate CBX expression, targeting these ncRNAs is an alternative approach to control CBX expression, which we will investigate. We will also look at the clinical relevance and predictive ability of CBX in different forms of cancer. These findings will help us to understand the roles of CBX in cancer biology and their potential uses in therapy and as prognostic indicators. The project will create an organoid model that faithfully reproduces colon cancer behaviour, including the role of CBX and ncRNA interactions in the tumour microenvironment. These models could be used to test new therapeutic molecules more effectively than traditional animal models. Organoids could also be used for high throughput screening of drugs targeted against CBX proteins or ncRNAs implicated in colon cancer. The project will reveal how CBX proteins influence chromatin and interact with specific ncRNAs to control gene expression in colon cancer, providing insights into epigenetic mechanisms and therapeutic targets. We will study the changes in gene expression caused by CBX manipulation and correlate them with the expression of ncRNAs. Understanding how CBXs modulate interactions between tumour cells and the microenvironment may lead to the development of targeted therapies to 'normalise' the tumour microenvironment, reducing invasiveness and improving response to treatments.

Significance and Innovation: This research project will provide an advanced understanding of the epigenetic mechanisms and molecular interactions involved in colon cancer. This could lead to new therapeutic options based on CBX and ncRNA, as well as more precise models for drug testing. Combining organoids and tumour microenvironment analysis will greatly enrich cancer research, paving the way for innovative, personalised approaches to colon cancer.

Translational relevance: Although translational research has led to significant improvements in CC screening and patient management, and although precision medicine is rapidly becoming the focus of scientific research, there is still a lack of biomarkers to guide the early diagnosis, targeted treatment, prognosis and surveillance of patients with CC. The CBX members' study could provide a new, integrated biomarker for use in the clinical assessment of CC conditions.

3 : Ruolo dei recettori dell'infiammazione nell'insorgenza e nello sviluppo delle patologie ad alto impatto sociale

Responsabile: Agnello Lisa

Programma:

Parole chiave: Infiammazione, Aptameri, Biomarcatori, Recettori.

Altri enti coinvolti:

Anno inizio: 2025

Durata: 36

Tipologia: Clinico-Epidemiologica osservazionale

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

Area di interesse: Diagnostica

Project Classification IRG: Cell Biology

Project Classification SS: Cellular Signaling and Regulatory Systems - CSRS

Descrizione: L'infiammazione è un processo centrale nello sviluppo di molte patologie, tra cui tumori, malattie cardiovascolari e autoimmuni. I recettori tirosin-chinasici (RTK), oltre al loro ruolo noto nella proliferazione cellulare, regolano anche importanti aspetti della risposta infiammatoria. Il progetto mira a sviluppare un approccio innovativo basato su aptameri (molecole a singolo filamento ad alta affinità) per riconoscere specifici RTK coinvolti in diversi contesti infiammatori. Attraverso l'analisi di modelli cellulari e campioni clinici, si cercherà di identificare profili molecolari distintivi di infiammazione acuta, cronica e tumorale. L'obiettivo finale è creare strumenti diagnostici precisi per la stratificazione dei pazienti e la personalizzazione delle terapie.

Risultati e prodotti conseguiti: Questo progetto si propone di generare una piattaforma innovativa basata su aptameri per il profiling molecolare dell'infiammazione, offrendo un'alternativa ai metodi tradizionali basati su anticorpi. Gli aptameri rappresentano una valida e migliore alternativa perché garantiscono una maggiore precisione, riproducibilità e flessibilità.

Attività previste 1. Selezione e ottimizzazione degli aptameri specifici per RTK:

- Selezione di aptameri noti contro i RTK,
- Validazione della specificità e affinità degli aptameri in vitro (binding assays, analisi di affinità).

2. Modelli cellulari in vitro:

- Coltura di linee cellulari infiammatorie e tumorali appropriate,
- Induzione di condizioni di infiammazione acuta e cronica (ad esempio tramite stimoli pro-infiammatori come LPS o citochine),
- Analisi dell'espressione dei recettori RTK nei diversi modelli.

3. Analisi su campioni clinici:

- Raccolta o utilizzo di campioni di siero/plasma da pazienti con infiammazione cronica, tumori, o condizioni infiammatorie acute,
- Applicazione degli aptameri per il rilevamento dei RTK nei campioni biologici (es. ELONA - Enzyme-Linked Oligonucleotide Assay o metodiche similari)

4. Mappatura dei profili infiammatori:

- Confronto dei pattern di espressione dei diversi RTK tra i modelli sperimentali e i campioni clinici,
- Identificazione di firme molecolari associate a tipi diversi di infiammazione (acuta, cronica, associata a tumore).

Background: Inflammation, both acute and chronic, is a fundamental driver of many pathological conditions, including cancer, cardiovascular diseases, neurodegenerative disorders, and autoimmune diseases. Immune and stromal cells, through a complex network of receptors, continuously sense their environment and modulate inflammatory responses via key signaling pathways such as MAPK, PI3K/AKT, and JAK/STAT. Among these receptors, receptor tyrosine kinases (RTKs) have emerged as critical regulators of inflammation, beyond their traditional role in cell growth and differentiation. Identifying RTK expression profiles under different inflammatory contexts could greatly enhance the ability to classify and treat various disease states. Aptamers, due to their high specificity and affinity, offer a promising tool for the precise recognition and characterization of these molecular patterns.

Hypothesis and Significance: We hypothesize that distinct patterns of RTK expression define different types of inflammation - acute, chronic, and cancer-associated - and that these patterns can be effectively detected and characterized using specific aptamers. Understanding these profiles will enable early diagnosis, patient stratification, and the development of personalized therapeutic strategies, ultimately improving patient outcomes.

Specific Aims: - To develop and validate aptamers targeting key RTKs involved in inflammatory processes.
- To identify molecular signatures that distinguish different types of inflammation, supporting diagnostic and therapeutic innovation.

Expected outcomes: This project will introduce an innovative aptamer based platform for profiling inflammation at the molecular level, a field currently dominated by less specific antibody-based methods. The use of aptamers promises greater specificity, reproducibility, and flexibility. Additionally, the project explores RTKs in inflammation from a novel angle, opening new perspectives for precision medicine approaches in managing inflammatory diseases and cancer.

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

Significance and Innovation: This project will introduce an innovative aptamer-based platform for profiling inflammation at the molecular level. Additionally, the project explores RTKs in inflammation from a novel angle, opening new perspectives for precision medicine approaches in managing inflammatory diseases and cancer.

Translational relevance: Early and precise identification of inflammatory states will allow for improved diagnosis and better therapeutic decision-making. The development of innovative diagnostic tools will contribute to advancing the capabilities of the SSN toward a more predictive and precision-based healthcare model.

4 : Il ruolo del dominio BRICHOS nella diagnosi della patologia da misfolding proteico

Responsabile: Altieri Filomena

Programma:

Parole chiave: Dominio BRICHOS, misfolding proteico, amiloide, biomcatore

Altri enti coinvolti:

Anno inizio: 2025

Durata: 36

Tipologia: Clinico-Epidemiologica osservazionale

Area di interesse: Diagnostica

Project Classification IRG: Biological Chemistry and Macromolecular Biophysics

Project Classification SS: Macromolecular Structure and Function E - MSFE

Descrizione: Gli chaperoni molecolari sono da anni impiegati come marcatori diagnostici e prognostici in numerose patologie, inclusi tumori, malattie sistemiche e neurodegenerative. Tra questi, il dominio BRICHOS (circa 100 amminoacidi) agisce da chaperone intramolecolare contro il misfolding proteico. È stato identificato in diverse proteine con ruoli patologici, tra cui quelle associate a COVID-19. Il nome deriva da tre proteine in cui fu originariamente scoperto: BRI2, legata a forme familiari di demenza; ChM-I, associata al condrosarcoma; e SP-C, coinvolta nella sindrome da distress respiratorio. È noto che l'efficienza degli chaperoni può ridursi con l'età, facilitando la formazione di aggregati proteici tossici. Anche le forme mature delle proteine BRICHOS tendono ad aggregare, ma il dominio agisce trasportando le regioni amiloidogeniche verso compartimenti cellulari sicuri, dove vengono rilasciate dopo scissione proteolitica. Recenti studi dimostrano che i domini BRICHOS ricombinanti di BRI2, proSP-C e GKN1 (down-regolata in cancro gastrico) prevengono l'aggregazione del peptide β -amiloide (A β), principale costituente delle placche nel morbo di Alzheimer. Analisi in silico hanno inoltre rivelato residui altamente conservati nel dominio BRICHOS di diverse proteine. Il progetto mira a indagare la funzione di BRICHOS nei contesti patologici in cui è coinvolto, per identificare sequenze o mutazioni candidate a nuovi biomarcatori nelle malattie da misfolding proteico.

Risultati e prodotti conseguiti: Identificazione di sequenze o mutazioni specifiche all'interno del dominio BRICHOS che ne modulano la funzione, da proporre come nuovi marcatori molecolari di malattie da misfolding proteico.
Comprensione dell'impatto che le mutazioni dei residui conservati possono avere sul controllo amiloidogenico e sull'interazione con i peptidi mal ripiegati.
Identificazione di strumenti diagnostici precoci o di strategie terapeutiche mirate ai meccanismi di misfolding proteico nelle malattie correlate.

Attività previste Sarà utilizzato un dominio BRICHOS sintetico per svolgere degli studi funzionali in sistemi cellulari modello. Lo studio del peptide si concentrerà sulle regioni di omologia tra le diverse proteine BRICHOS; in queste regioni saranno introdotte delle mutazioni a carico degli amminoacidi conservati e ne saranno valutati gli effetti in vitro ed in vivo.
Contestualmente, sarà adottato anche un approccio teranostico volto a valutare il ruolo delle regioni di omologia tra i vari domini BRICHOS sulla prevenzione dell'aggregazione proteica responsabile delle principali forme di neurodegenerazione.

Background: The BRICHOS domain, composed of approximately 100 amino acids, has been identified in several unrelated proteins with

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

different functions and disease associations. The acronym BRICHOS refers to three proteins where the domain was first observed. BRI2, which is expressed in neurons and is associated with familial British and Danish dementia (FBD and FDD), and Chondromodulin-I (ChM-I), a cartilage-specific glycoprotein linked to kondrosarcoma, and Lung Surfactant Protein C (SP-C), associated with respiratory distress syndrome (RDS).

The BRICHOS domain has been shown to act as an intramolecular chaperone against protein misfolding. It is known that molecular chaperone surveillance can decrease over time, such as during the process of ageing, leading to protein misfolding and the formation of amorphous and amyloid fibrillar aggregates that are associated with serious human diseases.

The BRICHOS proteins have a natural propensity to form pathological amyloid-like fibrils. In order to prevent this process, the BRICHOS domains act as chaperones, transporting their amyloidogenic cargo to the appropriate cellular sites where the mature polypeptides of their proteins are released upon proteolytic cleavage.

Moreover, literature data showed that the recombinant BRICHOS domain of BRI2, the precursor of SP-C (proSP-C) and Gastroske1 protein (down-regulated in gastric cancer) exerts chaperone action on beta-amyloid peptide (A β), the major component of extracellular amyloid deposits in Alzheimer's disease, preventing fibril formation.

Hypothesis and Significance: The BRICHOS domain is a molecular chaperone that regulates protein folding and prevents aggregation. Variations in its sequence affect its ability to inhibit amyloid formation. Studying the structure-function relationship of the BRICHOS domain across different proteins will enable the identification of functional variants with predictive or diagnostic value, improving early detection and risk assessment in protein misfolding diseases.

Specific Aims: The project aims to elucidate the functional role of BRICHOS domain in order to identify one or more candidate sequences/mutations as novel markers for protein misfolding diseases.

Expected outcomes: Identification of specific sequences or mutations within the BRICHOS domain that modulate its function, to be proposed as novel molecular markers of protein misfolding diseases.
Comprehension of the impact that mutations of conserved residues may have on amyloidogenic control and interaction with misfolded peptides.
Identification of early diagnostic tools or therapeutic strategies targeting protein misfolding mechanisms in related diseases.

Significance and Innovation: This project addresses an important unresolved question in biomedical research: how intrinsic domains within proteins can act as natural anti-amyloid chaperones and mitigate disease-related misfolding. The BRICHOS domain connects basic structural biology to its translational relevance in diseases such as Alzheimer's, dementia and cancer.

Translational relevance: Protein misfolding and amyloid formation are central to many chronic and age-related conditions that are prevalent in the Italian population. This project aims to enhance preventive diagnostics and therapeutic approaches by advancing the understanding of intrinsic molecular chaperones like the BRICHOS domain.

5 : Identificazione di marcatori della cancerogenesi tiroidea per lo sviluppo della medicina di precisione

Responsabile: Caccia Alessia

Programma:

Parole chiave: Cancerogenesi tiroidea, marcatori, microambiente tumorale, proteine KCTD

Altri enti coinvolti: Ceinge Biotechnologie Avanzate
Università degli studi di Napoli Parthenope
Istituto di Biostrutture e Bioimmagini, CNR
Università degli studi di Napoli Federico II

Anno inizio: 2025

Durata: 36

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

Tipologia: Clinico-Epidemiologica osservazionale

Area di interesse: Diagnostica

Project Classification IRG: Oncology 2 - Translational Clinical

Project Classification SS: Cancer Biomarkers - CBSS

Descrizione: I carcinomi della tiroide rappresentano tumori la cui incidenza è in aumento. Tra i diversi sottotipi, il più frequente è il carcinoma papillifero della tiroide. Negli ultimi anni l'aumento delle conoscenze dei meccanismi alla base della progressione neoplastica ha portato lo sviluppo di nuove terapie biologiche che hanno migliorato la prognosi per questi pazienti seppur associate a numerosi effetti collaterali. In questo contesto, studieremo il ruolo di marcatori circolanti e tissutali al fine di ottenere una più accurata caratterizzazione dei determinanti molecolari della cancerogenesi tiroidea. Inoltre, è ben noto che il sistema immunitario e il microambiente tumorale svolgono un ruolo chiave nel processo neoplastico; pertanto studieremo questa componente nel carcinoma tiroideo. Infine, ci focalizzeremo sul ruolo dei membri della famiglia delle proteine KCTD nella cancerogenesi tiroidea. Attraverso analisi preliminari in silico abbiamo svelato come alcuni membri di questa famiglia sono deregolati nei pazienti affetti da tumore tiroideo. Studieremo gli effetti di alcune proteine KCTD maggiormente deregolate nei tumori tiroidei mediante trasfezione ectopica o silenziamento in linee cellulari di carcinoma tiroideo in paragone a linee cellulari tiroidee non trasformate. Attraverso studi di proteomica ed in silico valuteremo i possibili interattori delle proteine KCTD in cellule di carcinoma tiroideo e i meccanismi di trasduzione del segnale e di regolazione associati.

Risultati e prodotti Risultati Attesi:

conseguiti:

- Identificazione del ruolo dei membri della famiglia di proteine KCTD nella trasformazione neoplastica della tiroide.
- Dissezione del contributo del microambiente tumorale e della popolazione di cellule immunitarie nei tumori della tiroide.
- Costruzione di modelli predittivi.
- Identificazione di potenziali bersagli per terapie personalizzate.

Attività previste- Studi in silico di espressione su database pubblici.

- Saggi di validazione su linee cellulari e su campioni di sangue e tissutali.
- Studi funzionali in vitro mediante silenziamento genico o over-espressione e valutazione degli effetti su proliferazione, migrazione, invasione, apoptosi, staminalità.
- Studio degli interattori delle proteine KCTD mediante esperimenti di proteomica.
- Valutazione del potenziale diagnostico/prognostico dei marcatori identificati.
- Studi in vitro per la valutazione dell'interazione tra le cellule tumorali e il microambiente tumorale.
- Studio della componente immunitaria nel carcinoma tiroideo.

Background: Thyroid carcinomas are tumors whose incidence is constantly increasing. Among the different subtypes, the most frequent is represented by papillary thyroid carcinoma. In recent years, the increase in knowledge of the mechanisms underlying thyroid neoplastic progression has led to the development of new biological therapies that have improved the prognosis for these patients although associated with numerous side effects. In this context, we will study the role of circulating and tissue markers to better characterize the molecular determinants of thyroid carcinogenesis. Furthermore, it is well known that the immune system and the tumor microenvironment play a key role in the neoplastic process, therefore we will study this component in thyroid carcinoma. Finally, we will focus on the role of members of the KCTD proteins family in thyroid carcinogenesis. Through preliminary in silico analyses we have unveiled that some members of this family are deregulated in patients affected by thyroid cancer. We will study the effects of deregulated KCTD proteins by ectopic transfection or silencing in thyroid carcinoma cell lines in comparison to non transformed thyroid cell lines. Through proteomic and in silico studies we will evaluate the possible interactors of KCTDs proteins in thyroid carcinoma cells and the associated signal transduction pathways and regulatory mechanisms.

Hypothesis and Significance: Within this project we aim to increase the knowledge of the molecular mechanisms underlying thyroid cancer onset and progression. This in turn will impact the clinical management of patients affected by this disease through the identification of novel diagnostic and therapeutic targets. Further, it is well established that the tumor microenvironment plays a critical role in cancer, particularly of the thyroid origin. Within this frame we will further dissect the contribution of the immune system in thyroid carcinogenesis. Finally, we will study the role of a family of protein named KCTD (Potassium Channel Tetramerization Domain) that play a role in cancer, neurological and genetic disease but for which, currently, information in thyroid

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

cancers is lacking.

Specific Aims: The project aims to identify and study markers of thyroid neoplasia for the development of precision medicine.

Expected outcomes:

- Identification of the role of KCTD protein family members in thyroid neoplastic transformation.
- Dissection of the contribution of the tumor microenvironment and of the immune cell population in thyroid cancers.
- Construction of predictive models.
- Identification of potential targets for personalized therapies.

Significance and Innovation: The results obtained within this project will allow to identify new biomarkers that could be helpful in improving the diagnostic assessment of patients with thyroid cancer and could support their clinical management.

Translational relevance: A better understanding of the molecular basis of thyroid neoplastic progression may lead to the identification of diagnostic and prognostic markers and to the identification of therapeutic targets. Considering the high and increasing incidence of thyroid carcinoma, this could also have relevance in terms of health expenditure costs for the National Health System.

6 : Il gene TSPO come potenziale biomarcatore precoce nella diagnosi della sclerosi laterale amiotrofica

Responsabile: Annunziato Lucio

Programma:

Parole chiave: Neuroinfiammazione, Malattie Neurodegenerative, Biomarcatori, Sclerosi laterale amiotrofica (SLA)

Altri enti coinvolti: Dipartimento di Neuroscienze Scienze Riproduttive e Odontostomatologiche dell'Università degli studi di Napoli Federico II.

Anno inizio: 2025

Durata: 36

Tipologia: Preclinica

Area di interesse: Diagnostica

Project Classification IRG: Brain Disorders and Clinical Neuroscience

Project Classification SS: Developmental Brain Disorders - DBD

Descrizione: La Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA) è una malattia neurodegenerativa progressiva che colpisce i motoneuroni, portando a paralisi muscolare. In Italia colpisce circa 5.000 persone, principalmente tra i 40-70 anni. Mentre il 90% dei casi è sporadico, il 10% ha origine genetica, con mutazioni in SOD1 (20%), TARDBP (10%), FUS (5%) e C9ORF72 (40% dei casi familiari). La diagnosi è complessa e si basa su valutazioni cliniche ed esami strumentali (elettromiografia, risonanza magnetica), ma mancano biomarcatori validati. Ricerche recenti evidenziano il ruolo cruciale del danno mitocondriale, caratterizzato da:

- Disfunzione energetica
- Eccesso di radicali liberi (ROS)
- Squilibri del calcio intracellulare

Queste alterazioni rappresentano promettenti bersagli terapeutici, con approcci sperimentali che includono antiossidanti, modulatori mitocondriali e regolatori del calcio. Particolare interesse è rivolto alla proteina 18-kDa Translocator Protein (TSPO), coinvolta in neuroinfiammazione e metabolismo lipidico. Sebbene il suo ruolo nel sistema nervoso centrale sia ben documentato nella SLA, la sua funzione nei muscoli scheletrici rimane poco chiara, indicando un'area importante per future ricerche.

Risultati e prodotti conseguiti: Aumento di TSPO nei modelli SLA: ci si aspetta un incremento significativo dell'espressione di TSPO nei muscoli scheletrici, in particolare quelli ricchi in fibre ossidative (come soleo e tibiale), fin dalle fasi precoci, in associazione con il danno mitocondriale. Colocalizzazione con marcatori mitocondriali: si prevede che TSPO mostri una marcata colocalizzazione con proteine

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

coinvolte nei processi di fissione e fusione mitocondriale (es. DRP1), suggerendo un ruolo attivo nella disfunzione mitocondriale.

TSPO come biomcatore della SLA: livelli elevati di TSPO potrebbero essere rilevati anche nel siero e nelle biopsie muscolari di pazienti SLA, supportandone l'utilizzo come biomcatore diagnostico e di progressione.

Attività previste I prossimi esperimenti valuteranno il ruolo del TSPO come biomcatore sierico e muscolare della malattia. A tal proposito si effettueranno esperimenti di western blotting, real time PCR nelle biopsie muscolari di animali SLA e pazienti ed esperimenti di ELISA Test per quantizzare e caratterizzare in maniera più accurata possibile l'aumento della proteina nel siero dei pazienti affetti da SLA. Infine, per identificare il ruolo del TSPO a livello mitocondriale saranno eseguiti esperimenti di citofluorimetria su mitocondri estratti da muscoli di animali riproducenti la SLA evidenziati con un marcatore specifico per i mitocondri, il MitoTracker, che legandosi permanentemente ad essi ne permette la loro estrazione e quantizzazione. I mitocondri così ottenuti saranno trattati con un siRNA selettivo per il TSPO. Successivamente sarà valutato l'effetto del silenziamento del TSPO attraverso l'utilizzo di marcatori di danno mitocondriale e vitalità cellulare.

Background: Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) is a progressive neurodegenerative disease affecting motor neurons, leading to muscle paralysis. In Italy, it affects approximately 5,000 individuals, primarily between 40-70 years of age. While 90% of cases are sporadic, 10% have genetic origins, with mutations in SOD1 (20%), TARDBP (10%), FUS (5%), and C9ORF72 (40% of familial cases).

Diagnosis remains challenging, relying on clinical assessments and instrumental tests (electromyography, MRI), but validated biomarkers are still lacking. Recent research highlights the crucial role of mitochondrial dysfunction, characterized by:

- Energy metabolism impairment
- Excess free radicals (ROS)
- Disrupted calcium homeostasis

These alterations represent promising therapeutic targets, with experimental approaches including antioxidants, mitochondrial modulators, and calcium regulators.

Particular interest focuses on the 18-kDa Translocator protein (TSPO), involved in neuroinflammation and lipid metabolism.

While its role in the central nervous system is well-documented in ALS, its function in skeletal muscles remains unclear, pointing to an important area for future research.

Hypothesis and Significance: The central hypothesis of this project is that the TSPO, a mitochondrial transporter involved in lipid metabolism and neuroinflammation, plays a critical role in the early stages of Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS). Given that TSPO expression increases significantly during neuroinflammatory responses, particularly in activated glial cells, we hypothesize that TSPO can serve as a potential early biomarker for ALS diagnosis, particularly in peripheral tissues like skeletal muscles, which are integral to disease progression. Mitochondrial dysfunction is a hallmark of neurodegenerative diseases such as ALS, and TSPO's involvement in modulating mitochondrial function could offer novel insights into the mechanisms of disease onset and progression. Investigating TSPO expression in skeletal muscle and serum could lead to earlier detection and more accurate monitoring of ALS, which is essential for clinical management and therapeutic interventions.

Specific Aims:

- To validate TSPO as a biomarker of early mitochondrial damage in ALS, TSPO expression will be evaluated in the skeletal muscles (gastrocnemius, soleus, triceps) in both in vivo and in vitro ALS models.
- To assess the correlation of TSPO with mitochondrial dysfunction, we will analyze the interaction of TSPO with mitochondrial markers such as Dynamin-related protein 1 (DRP1) and other indicators of mitochondrial integrity in SLA models.
- To quantify TSPO expression in serum and muscle biopsies obtained from ALS patients, techniques including Western blotting, Real-Time PCR, and ELISA were utilized. The levels of TSPO will be assessed in serum samples and muscle biopsies from ALS patients to further evaluate its potential as a diagnostic biomarker.
- To examine the role of TSPO in modulating neuroinflammation in skeletal muscles, we will explore TSPO expression in macrophages in skeletal muscle and its interaction with specific markers for anti-inflammatory phenotypes.

Expected outcomes:

- Increased TSPO expression in ALS models, we expect to observe a significant increase in TSPO levels in skeletal muscle tissues, specifically in the triceps, of ALS mice in the early stages of the disease, which are correlated with mitochondrial damage.
- Correlation between TSPO and mitochondrial markers, it is anticipated that TSPO will show a significant colocalization with DRP1 in the early stages of ALS, indicating its role in mitochondrial dysfunction.
- To Validate TSPO as a biomarker in ALS patients, we expect to detect elevated levels of TSPO in both serum and

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

muscle biopsy samples from ALS patients, further supporting its potential as a reliable biomarker.

Significance and Innovation: This project is significant because it explores a novel biomarker, TSPO, for the early diagnosis and monitoring of ALS, a disease currently lacking specific biomarkers. By focusing on the role of TSPO in mitochondrial dysfunction and neuroinflammation, the project aims to uncover crucial mechanisms of ALS progression that could potentially lead to new therapeutic strategies. Furthermore, the approach of using both in vivo and in vitro models, along with patient samples, represents a comprehensive and innovative strategy to validate TSPO as a biomarker across different stages of the disease.

Translational relevance: The findings from this project could significantly impact the clinical management of ALS by providing a reliable, early biomarker that could aid in the diagnosis of the disease, facilitating timely intervention. Early diagnosis is crucial for slowing disease progression and improving quality of life for ALS patients. Additionally, the potential for using TSPO as a biomarker for monitoring therapeutic efficacy would be invaluable in the context of clinical trials for experimental ALS therapies, thereby supporting personalized medicine approaches. Ultimately, this research has the potential to improve patient outcomes and reduce the long-term healthcare burden associated with ALS, benefiting the National Health System (SSN) through earlier diagnosis, more efficient monitoring, and better-targeted treatments.

7 : Nuove frontiere nella caratterizzazione del carcinoma epatocellulare: organoidi e immunoterapia per una diagnosi precoce e medicina personalizzata

Responsabile: CIARAMELLA VINCENZA

Programma:

Parole chiave: Epatoidi, immunità antitumorale, terapia personalizzata, biomarker.

Altri enti coinvolti: Università degli Studi della Campania L. Vanvitelli

Anno inizio: 2025

Durata: 36

Tipologia: Clinico-Epidemiologica osservazionale

Area di interesse: Diagnostica

Project Classification IRG: Oncology 2 - Translational Clinical

Project Classification SS: Cancer Biomarkers - CBSS

Descrizione: Il Carcinoma Epatocellulare (HCC) è uno dei tumori più frequenti e devastanti a livello globale, rappresentando una delle principali cause di morte per cancro. Si sviluppa principalmente nel fegato ed è strettamente legato a una serie di fattori di rischio ben noti, come la cirrosi epatica, che è una condizione in cui il fegato si cicatrizza a causa di danni cronici, l'infezione cronica da epatite B e C, che possono alterare la normale funzione epatica e favorire la trasformazione maligna delle cellule, l'abuso di alcol, che provoca danni epatici significativi, le malattie metaboliche e la resistenza all'insulina, che contribuiscono all'insorgenza di carcinoma epatocellulare.

Risultati e prodotti conseguiti: La co-cultura degli organoidi tumorali con popolazioni linfocitarie, come le cellule T (CD8+, CD4+) e le cellule NK, isolate dal sangue periferico di donatori sani o da pazienti con HCC potrebbe portare alla espressione di livelli di PD-L1 e altri segnali immunosoppressivi, una ridotta attivazione funzionale delle cellule T e NK, limitata produzione di citochine pro-infiammatorie o associate a immuno-evasione.

Attività previste: Un approccio innovativo dell'uso degli organoidi riguarda lo studio dei meccanismi di immunità antitumorale. Il sistema immunitario gioca un ruolo fondamentale nella lotta contro il cancro, e la comprensione dei modi in cui il carcinoma epatocellulare evita la sorveglianza immunitaria sta aprendo la strada a nuove strategie terapeutiche. L'immunoterapia, che utilizza il sistema immunitario per riconoscere e distruggere le cellule tumorali, sta diventando un'opzione sempre più promettente nel trattamento dell'HCC, con farmaci come gli inibitori del checkpoint immunitario che sono già utilizzati in altre

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

forme di cancro e che si stanno studiando per l'HCC.

1. Studiare il meccanismo di immune-escape: Comprendere come le cellule tumorali di HCC possano manipolare le cellule T e NK per sfuggire alla risposta immunitaria. La valutazione di segnali immunosoppressivi, come l'espressione di PD-L1 nelle cellule tumorali, potrebbe fornire informazioni cruciali per capire come il tumore eviti l'attacco immunitario.
2. Valutare la risposta immunitaria: Osservare se le cellule T e NK, quando in contatto con gli organoidi tumorali, possano attivarsi e rispondere in modo efficace contro il carcinoma epatocellulare. Un'analisi approfondita delle risposte citotossiche e del rilascio di citochine potrebbe rivelare nuove modalità per rafforzare la risposta anticancro.
3. Identificare citochine e fattori solubili come IL-6, TNF- α , IFN- γ , e IL-10, che potrebbero essere utilizzati come biomarcatori serici per monitorare la presenza di HCC o la risposta al trattamento.

Background: Hepatocellular carcinoma (HCC) is one of the most common and devastating cancers globally, representing one of the leading causes of cancer-related death. It primarily develops in the liver and is closely associated with a range of well-established risk factors, such as liver cirrhosis, a condition in which the liver becomes scarred due to chronic damage, chronic hepatitis B and C infections, which can disrupt normal liver function and promote malignant transformation of cells, alcohol abuse, which causes significant liver damage, metabolic diseases, and insulin resistance, which contribute to the onset of hepatocellular carcinoma.

Hypothesis and Significance: An innovative approach using organoids involves studying the mechanisms of anti-cancer immunity. The immune system plays a crucial role in fighting cancer, and understanding how hepatocellular carcinoma (HCC) evades immune surveillance is paving the way for new therapeutic strategies. Immunotherapy, which harnesses the immune system to recognize and destroy cancer cells, is becoming an increasingly promising option for treating HCC. Drugs such as immune checkpoint inhibitors, already used in other cancer types, are being investigated for their potential in HCC.

Moreover, early diagnosis of hepatocellular carcinoma is benefiting from advancements in imaging technologies and biomarkers, which allow for faster and more accurate tumor detection, thus improving the chances of effective treatment. Continuous monitoring of patients at risk of developing HCC through regular screening could, in fact, contribute to reducing the mortality associated with the disease.

Specific Aims: To identify diagnostic markers for hepatocellular carcinoma (HCC), a series of experiments focusing on molecular and proteomic characterization of tumor cells are essential, in addition to co-culturing organoids with lymphocytic populations. The main goals of these experiments are to identify biomarkers for early diagnosis, predict treatment response, and monitor disease progression. Key approaches include:

1. Transcriptomics (RNA-seq) of tumor organoids
2. ELISA assays for serum biomarker levels
3. Validation of protein biomarkers using immunohistochemistry

Expected outcomes: To explore the interaction between HCC and lymphocytic populations, a series of experiments can be designed to focus on how the tumor interacts with the immune system, particularly with T cells and Natural Killer (NK) cells. These experiments are essential to understanding the mechanisms of immune escape and evaluating potential immunotherapeutic approaches. One possible methodology for studying the interaction between HCC and the immune system involves co-culturing tumor organoids with lymphocytic populations, such as T cells (CD8+, CD4+) and NK cells, isolated from the peripheral blood of healthy donors or HCC patients. Specifically, T cells can be stimulated to express activation markers, such as CD69 and CD25, to observe how they respond to tumor organoids. NK cells, which play a critical role in the immune response against tumors, can be co-cultured with organoids to study how they interact with tumor cells and whether they are activated to destroy them.

Significance and Innovation: These strategies will not only enhance understanding of HCC at the molecular level but also improve diagnostic methods, enable more targeted therapies, and enhance clinical management of patients with HCC.

Moreover, early diagnosis of hepatocellular carcinoma (HCC) is benefiting from advancements in imaging technologies and biomarkers, which enable faster and more accurate tumor detection, thereby improving the chances of effective treatment. Continuous monitoring of patients at risk of developing HCC through regular screening could, in fact, help reduce the mortality associated with the disease.

Translational relevance: The integration of experiments such as transcriptomic analysis, proteomics, DNA methylation, immunohistochemistry, and serum biomarker tests represents a powerful strategy for identifying specific diagnostic markers for HCC. These approaches, combined with the use of organoids and interaction with the immune system, could lead to more precise diagnostic tools and targeted therapies capable of improving the clinical management

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

of HCC.

8 : Ruolo delle vescicole extracellulari (EVs) e degli RNA non-codificanti nello sviluppo del carcinoma prostatico androgeno indipendente (AIPC) e del carcinoma neuroendocrino prostatico transdifferenziato (t-NEPC)

Responsabile: SANTORO JESSIE

Programma:

Parole chiave: Vescicole extracellulari, biomarcatori circolanti, androgeno resistenza, microambiente tumorale, diagnosi precoce

Altri enti coinvolti:

Anno inizio: 2025

Durata: 36

Tipologia: Clinico-Epidemiologica osservazionale

Area di interesse: Diagnostica

Project Classification IRG: Oncology 2 - Translational Clinical

Project Classification SS: Cancer Biomarkers - CBSS

Descrizione: Il cancro alla prostata è la quarta causa di morte per cancro negli uomini in tutto il mondo. La scarsa prevenzione e la mancanza di biomarker più specifici, aumentano vertiginosamente il tasso di mortalità di anno in anno. Il recettore degli androgeni (AR) è il motore principale del carcinoma prostatico ed è anche il target terapeutico nel caso dei tumori prostatici androgeno dipendenti (APDC); sicché, pur essendoci una cura, quest'ultima non ha alcun effetto sui tumori prostatici androgeno indipendenti (AIPC). Le vescicole extracellulari (EVs) prodotte dalle cellule di AIPC possono essere promotrici dello sviluppo e della progressione del cancro e possono essere responsabili della resistenza all'androgeno-terapia.

Risultati e prodotti conseguiti: L'identificazione di biomarcatori circolanti all'interno di vescicole extracellulari (EVs) provenienti dal sangue periferico rappresenta un importante progresso verso strumenti diagnostici e prognostici non invasivi per il cancro alla prostata. L'obiettivo è valutare la presenza di biomarcatori circolanti in grado di discriminare tra AIPC (carcinoma prostatico indipendente dagli androgeni), ADPC (carcinoma prostatico dipendente dagli androgeni) e t-NEPC (carcinoma prostatico neuroendocrino transdifferenziato) utilizzando le EVs e confermare la prognosi nei pazienti affetti da queste patologie.

Attività previste: Isolamento e caratterizzazione delle EVs da linee di cancro alla prostata.
- Comparazione delle vescicole da AIPC e ADPC e il loro ruolo nel microambiente tumorale.
- Caratterizzazione studio delle EVs da t-NEPC.
- Analisi del ruolo diagnostico del LINC00707 nel carcinoma prostatico.
- Caratterizzazione di PBMCs di pazienti con carcinoma prostatico ed utilizzo delle EVs da plasma come biomarcatori circolanti.

Background: Prostate cancer is the fourth leading cause of cancer-related death among men worldwide. Poor prevention strategies and the lack of more specific biomarkers, particularly in the early stages of metastatic prostate cancer, have significantly increased the mortality rate year after year. The androgen receptor (AR) is the main driver of prostate cancer and serves as a therapeutic target in androgen-dependent prostate cancers (APDC); however, existing treatments are ineffective against androgen-independent prostate cancers (AIPC). Transdifferentiated neuroendocrine prostate cancer (t-NEPC) arises from prostate adenocarcinoma, of which the prognosis is generally poor, with a shorter survival rate compared to castration-resistant prostate adenocarcinoma. Scientific studies have shown that extracellular vesicles (EVs) produced by AIPC cells can promote cancer development and progression and contribute to androgen therapy resistance. Several studies demonstrate that cancer-derived EV lncRNAs are functional and can transfer drug resistance, enhance angiogenesis, and modulate other mechanisms involving tumour microenvironment (TME) cells.

Hypothesis and Significance: Prostate cancer EVs are potential carriers of biomarkers (proteins, mrna, long non-coding RNAs, and miRNAs) capable of activating specific intracellular signaling pathways to foster metastasis formation. Furthermore, EVs can contribute to immune escape, allowing tumours to evade the body's defence mechanisms and leading to

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

the development of more aggressive cancers with a worse prognosis.

Specific Aims:

- Identification of EVs contribution to prostate cancer development towards an AIPC subtype.
- EVs separation and characterisation (from AIPC and ADPC, and t-NEPC subtypes) to evaluate potential biomarkers for early diagnosis.
- Role of prostate cancer EVs in the tumor microenvironment.
- Investigation of non-coding RNA within the different subtypes of prostate cancer.
- Identification of potential biomarkers carried by EVs in the t-NEPC cell model.

Expected outcomes: The identification of circulating biomarkers within extracellular vesicles (EVs) from peripheral blood represents a major advancement toward non-invasive diagnostic and prognostic tools for prostate cancer. The objective is to assess the presence of circulating biomarkers that can discriminate between AIPC (androgen-independent prostate cancer), ADPC (androgen-dependent prostate cancer), and t-NEPC (transdifferentiated neuroendocrine prostate cancer) by using EVs, and to confirm the prognosis in patients affected by these diseases.

Significance and Innovation: This study could enable the identification, of one or more diagnostic and/or prognostic elements to be used for the clinical assessment of patients and for disease prognosis. This approach could significantly enhance current clinical practice by providing a complementary method to traditional biopsy and PSA testing, particularly for discriminating between different prostate cancer subtypes (AIPC, ADPC, and t-NEPC), which currently lack specific and early biomarkers.

Translational relevance: Incorporating EVs-based liquid biopsy into clinical workflows would allow earlier detection of aggressive tumor variants, improve risk stratification, and guide personalized therapeutic strategies. For the National Health System (SSN), this innovation would translate into more accurate and timely diagnoses, better patient management, and potentially reduced healthcare costs by limiting the use of invasive procedures and optimizing therapeutic interventions. Ultimately, this approach aligns with the broader objectives of precision medicine and value-based healthcare, aiming to improve patient outcomes and resource allocation within the SSN.

9 : Caratterizzazione delle vescicole extracellulari per l'identificazione di nuovi biomarcatori nella diagnosi precoce delle malattie cardiovascolari

Responsabile: LEONE ILARIA

Programma:

Parole chiave: Biopsia liquida, Vescicole Extracellulari (EVs), Biomarker

Altri enti coinvolti:

Anno inizio: 2025

Durata: 36

Tipologia: Metodologica

Area di interesse: Diagnostica

Project Classification IRG: Cardiovascular and Respiratory Sciences

Project Classification SS: Clinical and Integrative Cardiovascular Sciences - CICS

Descrizione: Le malattie cardiovascolari, in particolare la cardiopatia ischemica causata dall'aterosclerosi, rappresentano una delle principali cause di mortalità a livello globale. L'aterosclerosi, favorita da fattori di rischio come fumo, ipertensione, obesità e diabete, provoca il restringimento delle arterie e la riduzione del flusso sanguigno. La diagnosi delle stenosi coronariche si basa su esami clinici e strumentali, come elettrocardiogramma, test da sforzo, TAC coronarica e coronarografia. Recentemente, la biopsia liquida e le vescicole extracellulari (EVs) hanno suscitato grande interesse per la loro capacità di trasportare biomolecole nei fluidi biologici, offrendo nuove prospettive nella diagnosi e nel monitoraggio delle malattie cardiovascolari. Tuttavia, non sono ancora stati identificati marcatori specifici per una diagnosi precoce delle cardiopatie.

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

Risultati e prodotti conseguiti: Il progetto dovrebbe identificare biomarcatori specifici associati alle EV che distinguono i pazienti con malattie cardiovascolari dai controlli sani. Questi biomarcatori potrebbero aprire la strada a migliori strategie diagnostiche non invasive.

Attività previste

1. Classificazione clinica di pazienti:
 - Identificazione di pazienti sani (controllo) e pazienti con cardiopatie ischemiche ostruttive.
2. Isolamento di vescicole extracellulari:
 - Ottimizzazione del protocollo per l'isolamento delle EVs da campione biologico;
 - Caratterizzazione delle EVs (Western Blot, Nanoparticle Tracking Analysis -NTA-, Dynamic Light Scatter -DLS-, microscopia elettronica).
3. Analisi del contenuto delle vescicole tramite tecniche omiche (possibili analisi da eseguire):
 - Analisi del contenuto proteico tramite proteomica (Mass-spectrometry-based proteomics);
 - Analisi di metaboliti e/o lipidi tramite metabolomica (Mass-spectrometry accoppiata a tecniche di separazione es. GC-MS, LC-MS) e/o lipidomica;
 - Analisi di miRNA, lncRNA, circRNA tramite trascrittomica (RNA-seq per trascrittomica globale e/o miRNA profiling tramite qPCR array, microarray o NGS).
4. Identificazione di nuovi biomarker:
 - Acquisizione e analisi statistica dei dati tramite tool bioinformatici;
 - Validazione dei candidati biomarcatori proteici tramite tecniche mirate (es. Western blot, ELISA).
5. Estensione delle analisi su campioni clinici e su modelli in vitro:
 - Estensione delle analisi su campioni clinici;
 - Estensione delle analisi su linee cellulari cardiache o modelli di stress vascolare.

Background: Cardiovascular diseases are among the leading causes of death worldwide, with coronary artery disease playing a major role. Atherosclerosis, driven by risk factors such as smoking, hypertension, obesity, and diabetes, leads to coronary artery narrowing, reducing blood flow to the heart. Early diagnosis of coronary stenosis relies on clinical assessment and instrumental examinations, yet current methods are invasive or lack sensitivity. Liquid biopsy approaches, particularly those involving extracellular vesicles (EVs), have emerged as promising non-invasive tools for detecting disease-specific biomarkers. EVs carry a variety of biomolecules and are implicated in the development and progression of atherosclerotic plaques.

Hypothesis and Significance: We hypothesize that specific protein signatures carried by plasma-derived EVs can serve as novel, non-invasive biomarkers for the early detection of cardiovascular disease. Identifying such markers could significantly enhance diagnostic precision and patient stratification.

Specific Aims:

- Clinical classification of healthy patients and patients with cardiovascular disease;
- Isolation and characterisation of extracellular vesicles from plasma samples;
- Omic analysis of EV contents;
- Identification of novel biomarkers by bioinformatic analysis;
- Validation of selected biomarkers and extension of analyses to a larger population and in vitro with cardiac cell lines or vascular stress models.

Expected outcomes: The project is expected to identify specific EV-associated biomarkers that distinguish patients with cardiovascular disease from healthy controls. These biomarkers could pave the way for improved non-invasive diagnostic strategies.

Significance and Innovation: This study will enable the identification of new biomarkers associated with heart disease and advance the understanding of molecular mechanisms. The study aims to introduce innovative and minimally invasive tools for the diagnosis and monitoring of the disease. The use of liquid biopsy as a new diagnostic approach is highly innovative and addresses the current limitations of cardiovascular diagnostics.

Translational relevance: The development of a reliable diagnostic method based on liquid biopsy would improve early diagnosis, reduce the need for invasive procedures, optimize patient management and ultimately reduce healthcare costs, providing substantial benefits to the National Health System.

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

Linea di ricerca n. 2 : Metodologie innovative per l'ottimizzazione dei percorsi diagnostici

1 : Applicazione di tecniche avanzate di risonanza magnetica e dosaggio di biomarcatori circolanti per lo studio delle patologie neurodegenerative

Responsabile: Pappatà Sabina

Programma:

Parole chiave: MRI, DWI-DTI, QSM, PET, CT, Resting-state fMRI, neurodegeneration, neuroimaging biomarkers, circulating biomarkers

Altri enti coinvolti: Dipartimento di Medicina, Chirurgia e Odontoiatria "Scuola Medica Salernitana" dell'Università degli Studi di Salerno

Anno inizio: 2025

Durata: 36

Tipologia: Metodologica

Area di interesse: Diagnostica

Project Classification IRG: Brain Disorders and Clinical Neuroscience

Project Classification SS: Developmental Brain Disorders - DBD

Descrizione: Le malattie neurodegenerative includono lo spettro delle demenze, la Sclerosi Multipla e i disordini del movimento come la malattia di Parkinson (PD) e i parkinsonismi atipici. Sono caratterizzate da distinti quadri clinico-patologici, progressione e prognosi. Le tecniche avanzate di neuroimaging con MRI permettono di valutare l'integrità funzionale (resting-state fMRI), morfostrutturale volumetrica (MRI-T1) e microstrutturale (MRI- DWI-DTI) cerebrale, il contenuto di ferro (QSM). Inoltre l'integrazione con l'imaging PET/CT può aggiungere l'informazione molecolare. L'utilizzo singolo o combinato di tali metodiche ha un ruolo maggiore contribuendo alla comprensione dei meccanismi fisiopatologici, alla diagnosi differenziale e alla valutazione della progressione. Sebbene lo sviluppo di protocolli innovativi di acquisizione ed elaborazione del dato consenta di ottenere dati quantitativi utili nei protocolli diagnostici, la mancata ottimizzazione e standardizzazione delle procedure ne limita l'impatto traslazionale in clinica. Gli obiettivi del progetto sono: 1) sviluppo e ottimizzazione di protocolli di analisi di MRI funzionale e strutturale, di diffusione/trattografia, e QSM e integrazione multimodale con l'imaging PET 2) applicazione di tali metodi a dataset retrospettivi per individuare biomarcatori di imaging sensibili diagnostici e di progressione nei parkinsonismi 3) dosaggio di biomarcatori circolanti coinvolti nella patologia neurodegenerativa 4) integrazione multifattoriale vivo/vitro.

Risultati e prodotti conseguiti: I risultati attesi comprendono: l'implementazione di tecniche avanzate di acquisizione ed elaborazione del dato di risonanza magnetica e applicazione di tali tecniche per il supporto alla diagnosi e alla valutazione della progressione e la traslazione nell'ambito delle neurodegenerazioni e il dosaggio di diversi biomarker da sangue periferico di soggetti malati e sani.

Attività previste Sviluppo e validazione di protocolli avanzati di risonanza magnetica e PET/TC dedicati per analisi quantitative:

- Studio di accuratezza e riproducibilità dei dati quantitativi derivati da tecniche avanzate di risonanza e sui biomarcatori circolanti;
- Valutazione e definizione di valori normativi;
- Studio dei parametri quantitativi, e integrazione con variabili cliniche di tipo motorio, cognitivo e comportamentale;
- Integrazione diagnostica di tali parametri e correlazione rispetto a modalità diagnostiche convenzionalmente adottate.

Background: Neurodegenerative diseases include the dementia spectrum, Multiple Sclerosis, and movement disorders including Parkinson's disease (PD) and atypical Parkinsonism. They are characterised by distinct clinico-pathological pictures, progression and prognosis. Advanced neuroimaging MRI techniques make it possible to assess functional brain tissue integrity (resting-state fMRI), macrostructural (MRI-T1) and microstructural (MRI- DWI-DTI) integrity, iron content (QSM). Moreover the integration of MRI with PET/CT imaging may provide molecular information. The single or combined use of these methods plays a major role by contributing to the understanding of pathophysiological mechanisms, differential diagnosis and evaluation of progression. Although the development of innovative protocols of data acquisition and processing allows to obtain quantitative data useful in diagnostic protocols, the lack of optimisation and standardisation of procedures limits their translational impact in clinical setting. The objectives of this project are: 1) development and optimisation of protocols dedicated to the analysis of functional and structural MRI, diffusion/tractography, QSM imaging, also integrated with PET/CT data 2) application of these methods to

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

retrospective datasets to identify imaging markers sensitive to pathological changes and their progression in neurodegenerative parkinsonisms³) assaying circulating biomarkers involved in pathology 4) multifactorial in vivo/vitro integration.

Hypothesis and Significance: The development and optimization of methods of quantification of cerebral functional and morphometric parameters derived from advanced magnetic resonance imaging (MRI) techniques should provide more accurate and reproducible imaging biomarkers for diagnosis and monitoring disease progression.

Specific Aims: The present project aims to apply advanced magnetic resonance imaging (MRI) techniques-such as diffusion imaging, tractography, susceptibility-weighted imaging, and structural and functional MRI-through the development and optimization of dedicated protocols and their application to retrospective datasets, with the goal of identifying imaging biomarkers sensitive to pathological alterations and their progression in the context of movement disorders.

Expected outcomes: The expected outcomes include the implementation of advanced MRI acquisition and processing techniques, integrable with PET/TC, and the application of these methods to support diagnosis, monitor disease progression, and promote the translational use in the field of movement disorders.

Significance and Innovation: Availability of imaging biomarkers of parkinsonian syndromes to be used as outcome measures in clinical trials and potentially useful in multimodal combination with routine clinical assessment.

Translational relevance: To promote the use of MRI imaging biomarkers in the clinical management of movement disorders.

2 : Metodi di intelligenza artificiale nel dominio radio-patomico per applicazioni oncologiche

Responsabile: Brancato Valentina

Programma:

Parole chiave: Patologia Digitale, Patomica, Radiomica, Cancro, Intelligenza Artificiale

Altri enti coinvolti: Istituto di Scienze Applicate e Sistemi Intelligenti 'Eduardo Caianiello' (CNR-ISASI)

Anno inizio: 2025

Durata: 36

Tipologia: Metodologica

Area di interesse: Diagnostica

Project Classification IRG: Healthcare Delivery and Methodologies

Project Classification SS: Biomedical Computing and Health Informatics - BCHI

Descrizione: L'avvento della Patologia Digitale (DP) e l'evoluzione dell'imaging radiologico hanno rivoluzionato l'oncologia, permettendo un'analisi integrata delle immagini microscopiche (WSIs) e macroscopiche. Questa sinergia ha aperto la strada all'uso dell'Intelligenza Artificiale (IA), fondamentale per diagnosi più accurate, prognosi affidabili e terapie personalizzate. Patologia computazionale e la radiomica, mediante machine e deep learning, analizzano immagini istopatologiche e radiologiche, rilevando pattern complessi non identificabili manualmente. Le principali applicazioni comprendono classificazione tumorale, valutazione della malignità e predizione prognostica. L'integrazione multimodale di immagini, dati clinici e profili molecolari consente una comprensione più profonda del tumore, favorendo l'oncologia di precisione. In questo contesto, i Sistemi di Supporto alle Decisioni Cliniche basati su IA organizzano dati eterogenei per creare modelli diagnostici e prognostici avanzati. Tuttavia, l'impiego dell'IA in ambiti radio-patomici e multimodali richiede modelli solidi, interpretabilità e validazione clinica. Superare queste sfide richiede un approccio interdisciplinare e ricerca traslazionale. Il progetto mira a sviluppare metodologie IA per migliorare la diagnosi oncologica, automatizzare l'analisi delle immagini e integrare dati eterogenei, aumentando precisione, efficienza e personalizzazione delle cure.

Risultati e prodotti conseguiti: Il progetto prevederà l'implementazione di pipelines di processing e di metodi computazionali e statistici per la generazione, l'analisi e la validazione di descrittori quantitativi estratti da immagini radiologiche e/o istopatologiche di pazienti affetti da patologie oncologiche.

Il progetto prevederà l'implementazione di pipeline di elaborazione e di metodi computazionali e statistici per la

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

generazione, l'analisi e la validazione di descrittori quantitativi estratti da immagini radiologiche e/o istopatologiche di pazienti affetti da patologie oncologiche.

Tra i principali risultati attesi si annoverano:

- i) lo sviluppo di modelli di Intelligenza Artificiale specificamente progettati per l'ambito della patologia digitale (DP) e della radiomica, finalizzati all'estrazione automatica di caratteristiche quantitative da immagini mediche, con l'obiettivo di supportare la classificazione tumorale, la determinazione del grading e la valutazione prognostica;
- ii) l'implementazione di pipeline computazionali per l'integrazione di dati multimodali, comprendenti immagini radiologiche, dati clinici e, ove disponibili, informazioni molecolari (es. profili genomici), con lo scopo di aumentare l'interpretabilità biologica dei modelli predittivi sviluppati;
- iii) l'adozione di tecniche di spiegabilità (explainability), come SHAP (Shapley Additive Explanations) e LIME (Local Interpretable Model-agnostic Explanations), per garantire la trasparenza dei modelli e facilitare l'interpretazione clinica dei risultati, promuovendone l'integrazione nei flussi di lavoro della pratica oncologica.

Attività previste- Utilizzo di dati clinici, radiologici, istopatologici e genomici di pazienti affetti da patologie oncologiche provenienti dai database pubblici (es. TCGA, TCIA, CPTAC) come caso studio.

- Implementazione di pipelines di processing per la generazione di descrittori radiomici e/o patomici estratti da immagini radiologiche ed istopatologiche ottenute tramite diverse tecniche di imaging;
- Applicazione delle pipelines di processing sviluppate ad immagini radiologiche e/o istopatologiche di pazienti affetti da patologie oncologiche e affinamento di tali pipelines per l'ottimizzazione delle analisi radiomiche e/o patomiche;
- Sviluppo di metodi computazionali e statistici al fine di favorire l'integrazione dei dati radiomici provenienti da immagini radiologiche di pazienti affetti da patologie oncologiche con altri parametri quantitativi (clinici, genomici, patomici), l'analisi multiscale, e l'identificazione di possibili descrittori numerici a supporto del processo clinico-decisionale.
- Sviluppo e valutazione di tecniche di spiegabilità dei modelli (e.g., SHAP, LIME), volte a migliorare l'interpretabilità delle decisioni dell'IA, promuovendone la fiducia da parte del personale medico e la futura implementazione in ambito clinico.

Background: The advent of Digital Pathology (DP) and advances in radiological imaging have transformed oncology, enabling integrated analysis of medical images at both microscopic (WSIs) and macroscopic levels. Their combination provides a foundation for applying Artificial Intelligence (AI), which is revolutionizing cancer research by supporting accurate diagnosis, prognosis, and treatment planning through multiscale morphological and biological analysis. Computational pathology and radiomics use machine and deep learning to analyze histopathological and radiological images, identifying complex patterns beyond human capacity. Applications include tumor classification, grading, prognosis prediction, and discovery of new quantitative descriptors. Integrating data from pathology, radiology, molecular profiles, and clinical records enhances understanding of tumor heterogeneity and supports personalized oncology. Multimodal analysis links morphology, imaging phenotypes, and molecular features, offering insights for tailored therapies. AI-based Clinical Decision Support Systems structure and interpret heterogeneous data into actionable knowledge. However, challenges such as model robustness, interpretability, and clinical validation remain. Overcoming them requires interdisciplinary collaboration and a strong translational approach to ensure clinical reliability and applicability.

Hypothesis and Significance: The project aims to improve cancer diagnosis and treatment planning by leveraging advanced AI methodologies across both digital pathology (DP) and radiological imaging. Its utility lies in the potential to transform clinical workflows, making cancer diagnostics more precise, efficient, and tailored to individual patient profiles. By automating the analysis of whole-slide images and radiological scans through AI-driven tools, the project seeks to reduce the manual burden on clinicians, enhance diagnostic consistency, and uncover novel imaging numerical descriptors to support informed decision-making. A key promise of the project is its ability to bridge existing gaps in cancer diagnostics by integrating heterogeneous data sources, including pathology and radiology images, clinical records, and molecular datasets. The combination of high-resolution histopathological data with macroscopic radiological imaging, together with genomic and transcriptomic profiles, offers a unique opportunity to explore complex relationships between tissue morphology, imaging phenotypes, and molecular characteristics. This integrative approach is expected to advance the understanding of tumor heterogeneity, improve diagnostic accuracy, and support the development of more effective, personalized treatment strategies.

Specific Aims: The primary aim of this project is to advance cancer diagnostics and prognostics through the development of innovative AI methodologies within the domains of digital pathology (DP) and radiomics. By using DP as a central pillar, complemented by radiological and molecular data, the project targets key challenges in tumor classification, outcome prediction, and personalized treatment planning. Particular emphasis will be placed on multimodal data integration and the interpretability of AI

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

models, ensuring their practical utility and clinical acceptance. The specific objectives of the project include:

- Development of predictive AI models for digital pathology and radiomics: The project will design robust machine learning and deep learning algorithms for analyzing WSIs and radiological images. These models will target tasks such as tumor classification, grading, and prognosis estimation, with the goal of achieving high diagnostic accuracy and reproducibility.
- Integration of multimodal data: To enhance the predictive power of the AI models, the project will explore the integration of additional data sources, including radiomic features[9], clinical data (e.g., patient demographics and treatment history), and molecular information[10] (e.g., genomic and transcriptomic profiles). This multimodal approach will enable a comprehensive understanding of cancer by uncovering relationships between imaging patterns, molecular features, and clinical outcomes.
- Promote interpretability and clinical usability: The project will prioritize the development of interpretable AI methods that provide actionable insights for clinicians. By leveraging techniques for model explainability, the project aims to build trust in AI systems and support their seamless adoption into clinical workflows.

Expected outcomes: The expected outcomes of the project will include:

- i) the development of AI models tailored to both DP and radiomics for the extraction of quantitative imaging features, supporting improved tumor classification, grading, and prognostic evaluation;
- ii) the implementation of computational pipelines for the integration of radiological, clinical, and, where available, molecular data, enhancing the robustness and biological interpretability of predictive models;
- iii) the adoption of explainability techniques (e.g., SHAP, LIME) to ensure transparency and clinical interpretability of AI outputs, supporting integration into routine oncology workflows.

Significance and Innovation: The impact of the project is multifaceted. Clinically, it supports pathologists and oncologists by delivering interpretable AI outputs and actionable insights, fostering better-informed decisions. Model explainability will promote trust and integration into existing workflows. Furthermore, the ability to link histopathological findings with patient outcomes holds significant potential for predicting disease progression and treatment responses, ultimately improving patient outcomes. From a broader perspective, the project addresses a critical need in precision oncology by reducing diagnostic variability and enabling early intervention. By using DP as the cornerstone, the research supports the validation and deployment of AI tools in real-world clinical environments. The seamless integration of these technologies into healthcare systems promises to enhance the speed and quality of cancer diagnostics while maintaining accessibility and scalability.

Translational relevance: From an economic perspective, extracting additional data from routinely acquired radiological (radiomics) and digital pathology (pathomics) images can generate significant health impact at relatively low cost. This adds strong value to the National Health System, especially in oncology. By reducing invasive procedures and enhancing the use of existing diagnostics, the project offers a cost-effective approach to cancer care. Integrating multimodal data into AI models boosts diagnostic efficiency and reduces errors, supporting sustainable, high-quality oncology practices. These innovations could reshape cancer diagnostics and serve as a model for other solid tumors. The integration of DP, radiology, genomics, and clinical data into an AI-driven workflow paves the way for a new era of precision medicine. If validated, the project will not only improve cancer care standards but also enable broader application to other diseases, amplifying its impact on healthcare and research.

3 : Impiego delle tecnologie abilitanti per l'innovazione diagnostica

Responsabile: AIELLO MARCO

Programma:

Parole chiave: Big Data, Intelligenza Artificiale, Biobanche digitali, Stampa 3D, data management, calcolo quantistico, medicina partecipativa

Altri enti coinvolti:

Anno inizio: 2025

Durata: 36

Tipologia: Tecnologie abilitanti

Area di interesse: Diagnostica

Project Classification IRG: Bioengineering Sciences and Technologies

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

Project Classification SS: Biodata Management and Analysis - BDMA

Descrizione: Nello scenario Industria 4.0 emergono tecnologie abilitanti che possono rivelarsi cruciali per l'innovazione del settore diagnostico. In particolare: manifattura additiva, simulazione e Big Data analytics con le applicazioni di intelligenza artificiale. L'idea progettuale nasce, quindi, dalla necessità di inquadrare il ruolo delle tecnologie emergenti nei percorsi diagnostici, sia favorendone lo sviluppo mediante opportune politiche di gestione dei dati e partecipazione dei pazienti, sia valutandone l'affidabilità come supporto alla decisione e, in generale, al miglioramento dell'efficienza dell'iter clinico. Sfruttando le risorse e le competenze presenti all'interno dell'IRCCS SYNLAB SDN, il progetto si propone quindi di:

- Implementare strategie partecipative per la corretta gestione dei dati per lo sviluppo di biobanche digitali al servizio dello sviluppo, in-silico, di nuove tecnologie (in-silico trials);
- Implementare tecniche di intelligenza artificiale e big-data analytics basate su dati e segnali diagnostici;
- Valutare l'impatto di strumenti basati su intelligenza artificiale sulla pratica clinica e supportare l'interpretazione dei risultati;
- Impiegare tecniche di modellazione 3D ed additive manufacturing a supporto della valutazione tecnica (fantocci) e della decisione clinica (modelli diagnostici o pre-chirurgici);
- Valutare l'impatto di nuovi modelli computazionali, come il calcolo quantistico, nell'ambito diagnostico.

Risultati e prodotti conseguiti: I risultati previsti dall'implementazione del progetto mirano a favorire o sviluppo delle tecnologie abilitanti nel settore diagnostico. In particolare, nel dominio delle tecnologie abilitanti in diagnostica, saranno conseguiti dei prodotti di ricerca scientifici e specifiche analisi dei flussi di lavoro e valutazioni costo/beneficio a supporto della promozione e della validazione dell'impiego di tecnologie innovative nella diagnostica.

Attività previste: I risultati del progetto saranno conseguiti portando avanti le seguenti attività:

- Valutare l'impatto delle applicazioni di intelligenza artificiale nella pratica diagnostica;
- Definire formati e procedure standardizzati per la collezione dei dati diagnostici in biobanche digitali;
- Studiare e definire ontologie per la classificazione supervisionata e non-supervisionata dei dati diagnostici;
- Sviluppare strategie di elaborazione delle immagini per la modellazione e la stampa 3D;
- Affinare le tecniche di segmentazione, co-registrazione ed analisi delle immagini per la definizione di template di popolazione per in-silico trials.

Background: In the Industry 4.0 scenario, enabling technologies that can prove to be crucial for innovation in the diagnostic sector emerge. In particular: additive manufacturing, simulation and Big Data analytics with artificial intelligence applications.

Hypothesis and Significance: The idea behind this project arises from the need to frame the role of emerging technologies in diagnostic paths, both by encouraging their development through appropriate data management policies, and by evaluating their reliability as a support to the decision and, in general, to the improvement of efficiency of the clinical process. Specific aims: By exploiting the resources and skills present within the IRCCS SYNLAB SDN, the project therefore aims to: - Implement strategies for the correct management of data for the development of digital biobanks at the service of the development, in silico, of new technologies (in-silico trials). - Implement artificial intelligence and big-data analytics techniques based on diagnostic data and signals. - Evaluate the impact of tools based on artificial intelligence on clinical practice and support the interpretation of the results. - To employ 3D modeling and additive manufacturing techniques to support the technical evaluation (phantoms) and the clinical decision (diagnostic or pre-surgical models). - Assessing the impact of new computational models, such as quantum computing, in the diagnostic field.

Specific Aims: By exploiting the resources and skills present within the IRCCS SYNLAB SDN, the project therefore aims to: - Implement strategies for the correct management of data for the development of digital biobanks at the service of the development, in silico, of new technologies (in-silico trials). - Implement artificial intelligence and big-data analytics techniques based on diagnostic data and signals. - Evaluate the impact of tools based on artificial intelligence on clinical practice and support the interpretation of the results. - To employ 3D modeling and additive manufacturing techniques to support the technical evaluation (phantoms) and the clinical decision (diagnostic or pre-surgical models).

Expected outcomes: This project will carry out the following results: - Evaluate the impact of artificial intelligence applications in diagnostic practice. - Define standardized formats and procedures for the collection of diagnostic data in digital biobanks. - Studying and defining ontologies for supervised and unsupervised classification of diagnostic data. - Develop image

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

processing strategies for 3D modeling and printing. - Refine segmentation, co-registration and image analysis techniques for the definition of population templates for insilico trials.

Significance and Innovation: The use of enabling technologies in diagnostics can decisively favor the innovation of diagnostic paths, offering a series of advanced tools that can radically change the diagnostic approach through the enhancement of data, the improvement of flow management and efficiency. procedures and, finally, the improvement of diagnostic accuracy thanks to the use of tools to support clinical decisions.

Translational relevance: The national health system can certainly benefit from the project's activities, both in terms of service quality and in terms of efficiency, bringing the benefits of enabling technologies to the diagnostic sector, the impact of which is already considered fundamental for economic development.

4 : Stima della Connettività Effettiva fMRI Guidata dall'EEG: Approfondimenti sulla Dinamica Cerebrale in Condizioni di Salute e di Malattia

Responsabile: Iandolo Riccardo

Programma:

Parole chiave: EEG, fMRI, EEG/fMRI biomarkers, effective connectivity, graph theory, brain networks

Altri enti coinvolti:

Anno inizio: 2025

Durata: 36

Tipologia: Metodologica

Area di interesse: Diagnostica

Project Classification IRG: Brain Disorders and Clinical Neuroscience

Project Classification SS: Developmental Brain Disorders - DBD

Descrizione: Questo progetto mira a migliorare la stima della connettività effettiva (EC) nel cervello umano integrando l'EEG ricostruito alla sorgente con la fMRI. Sebbene EEG e fMRI forniscano individualmente informazioni complementari in termini temporali e spaziali, il loro uso combinato è ancora poco esplorato per la modellizzazione delle interazioni causali tra le regioni cerebrali. Proponiamo di sviluppare e validare una pipeline che sfrutti l'elevata risoluzione temporale dell'EEG per informare i modelli di EC basati su fMRI. Nel breve termine, perfezioneremo gli strumenti di analisi, raccoglieremo nuovi dati EEG/fMRI da soggetti sani e inizieremo la modellizzazione preliminare dei modelli per stimare l'EC. Nel lungo termine, valideremo l'approccio su dataset più ampi e lo applicheremo a popolazioni cliniche, come individui affetti da demenza o disturbi della coscienza. Si prevede che questo framework combinato EEG/fMRI aumenti la sensibilità alla dinamica causale del cervello e fornisca uno strumento prezioso per le neuroscienze di base e traslazionali.

Risultati e prodotti Obiettivi a breve termine:

conseguiti:

- Sviluppare e perfezionare una pipeline per l'analisi dei dati EEG ricostruiti con tecniche di ricostruzione delle sorgenti ed acquisiti durante la fMRI.
- Avviare una nuova raccolta di dati EEG/fMRI su partecipanti sani presso l'IRCCS SYNLAB SDN.
- Iniziare lo sviluppo di un modello di connettività effettiva (EC) integrando i dataset EEG e fMRI acquisiti simultaneamente

Obiettivi a Lungo Termine:

- Validare e generalizzare il modello EC su un dataset più ampio e implementarlo come strumento riutilizzabile presso l'IRCCS SYNLAB SDN.
- Pubblicare un articolo metodologico che presenti il modello di EC basato sulla fMRI informata dall'EEG utilizzando dati di soggetti sani.
- Applicare l'approccio validato a un dataset clinico (es. demenza, disturbi della coscienza) e pubblicare risultati scientifici clinici e traslazionali.
- Analisi delle associazioni spaziali e temporali tra EEG e fMRI nella fase preclinica della demenza e dei disturbi psichiatrici.

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

- Analisi delle anomalie resting-state e task-fMRI e EEG nelle condizioni patologiche neurologiche e psichiatriche.

Attività previste- Sviluppo, perfezionamento e validazione della pipeline

- Integrazione multimodale di EEG e fMRI attraverso l'uso di un modello EC
- Nuova raccolta dati
- Disseminazione scientifica
- Applicazione della nuova metodologia a una coorte clinica e relativa disseminazione scientifica

Background: As standalone techniques, electroencephalography (EEG) and functional Magnetic Resonance Imaging (fMRI) provide rich yet distinct insights into brain activity, with EEG excelling in temporal resolution and fMRI in spatial resolution. The integration of these complementary modalities through concurrent EEG/fMRI has the potential to offer new insights into human brain function. Given this potential, the field of concurrent EEG/fMRI has grown significantly over the past two decades. In parallel, neuroimaging based on non-invasive electrophysiological recordings has surged. By coupling EEG recordings with appropriately built head model conductors and source reconstruction algorithms, it is possible to estimate neural sources with relatively good spatial resolution (6mm - 1cm). This approach has proven reliable in estimating resting state networks which spatially overlap with fMRI estimates, and in uncovering frequency-specific features of spontaneous oscillatory activity in health and disease. Overall, this methodology has contributed to identifying new features of resting state networks, oscillatory dynamics and brain functional connectivity (FC), which explores statistical associations between brain regions. A vast array of methods is available to study FC and, among them, only a subset - known as effective connectivity (EC) - can infer causal relationships, going beyond the associative nature of many other FC methods.

Hypothesis and Significance: Within this framework, we posit that incorporating temporally rich source-reconstructed EEG signals can enhance the estimation of EC with fMRI, thereby increasing its sensitivity to detecting causal interactions among brain regions in both health and disease. Furthermore, this boosted sensitivity would be particularly beneficial in patients' population, where naturally occurring variability both within and between individuals tends to be high due to individual idiosyncrasies.

Specific Aims: Objective 1. Development and fine-tuning of a pipeline to analyze source-reconstructed EEG signals collected during fMRI. Objective 2. Initiate a new data collection process, including healthy individuals, to validate the pipeline with internal data, leveraging the experimental setup already available at IRCCS SYNLAB SDN. Objective 3. Developing the effective connectivity model by fusing EEG/fMRI data from a preliminary subset of the dataset collected in stage ST02.

Expected outcomes: Outcome 1. Definition and validation of the EC model on a large dataset of simultaneous EEG/fMRI. This model, together with the fine-tuned pipeline developed, can be applied to any new EEG/fMRI dataset at IRCCS Synlab SDN, creating a tool that other researchers at the IRCCS can utilize. Outcome 2. Publish a methodological paper on the EEG-informed fMRI EC model. Outcome 3. Publish a clinical paper based using the same methodology, applied to a patient dataset, for example dementia or disorder of consciousness. This would provide the community with a new diagnostic tool based on advanced connectivity measures. Outcome 4. Analysis of spatial and temporal associations between EEG and fMRI in the preclinical and prodromal stages of dementia, as well as in psychiatric conditions. Outcome 5. Analysis of resting-state and task-related EEG abnormalities in neurological and psychiatric conditions.

Significance and Innovation: This project addresses a key methodological gap in neuroimaging by combining the strengths of EEG and fMRI for causal brain connectivity analysis. The development of a validated, generalizable EC model will provide novel mechanistic insights into both basic neuroscience and clinical applications, offering and providing to the community a novel method for the non-invasive investigation of brain dynamics in health and disease.

Translational relevance: The translational component is embedded in the project's design: it moves from methodological innovation (in healthy subjects) toward clinical relevance and impact, aiming to ultimately improve understanding and monitoring of brain disorders using cutting-edge multimodal imaging techniques.

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

5 : Impiego dell'imaging ibrido e radio traccianti innovativi nello studio delle patologie ad alto impatto sociale

Responsabile: NICOLAI EMANUELE

Programma:

Parole chiave: PET, TC, MRI , diagnosi, prognosi, radiotraccianti

Altri enti coinvolti: Università degli Studi di Napoli "Federico II"

Anno inizio: 2025

Durata: 36

Tipologia: Metodologica

Area di interesse: Diagnostica

Project Classification IRG: Surgical Sciences, Biomedical Imaging, and Bioengineering

Project Classification SS: Clinical Molecular Imaging and Probe Development - CMIP

Descrizione: Il 18F-FDG è il tracciante metabolico più utilizzato nella diagnostica PET in patologie ad alto impatto sociale, soprattutto in campo oncologico e neurologico. Inoltre, lo sviluppo di metodi di sintesi di traccianti specifici per processi metabolici diversi dalla attività delle proteine di membrana per il trasporto di glucosio (GLUTs) marcati con Fluoro-18 quali DOPA, Sodio Fluoruro, FET, Fluoroetilcolina, PSMA, MISO e FLT permettono di esplorare l'attività di ulteriori processi metabolici e del microambiente in numerose patologie, ampliando notevolmente il potenziale della diagnostica ibrida PET/CT e l'integrazione con la RM. Tuttavia, la modesta disponibilità di questi traccianti ha limitato la valutazione dell'impatto clinico e delle informazioni ottenibili in numerose condizioni di patologia cronica. Le strumentazioni di produzione radiofarmaceutica e le apparecchiature di imaging tomografico tecnologicamente avanzate disponibili presso l'IRCCS SYNLAB SDN forniscono il setting clinico ideale per mettere a punto e validare protocolli clinici mirati al miglioramento del percorso diagnostico dei pazienti, ad esempio per lo studio del rischio cardiovascolare in pazienti oncologici.

Risultati e prodotti conseguiti: - Miglioramento dell'accuratezza diagnostica nell'identificazione e caratterizzazione delle lesioni e delle patologie cardiovascolari e neurologiche rispetto alla diagnostica convenzionale - Miglioramento della valutazione precoce e tardiva della risposta alla terapia rispetto all'impiego dei radiotraccianti convenzionali.

Attività previste Caratterizzazione delle patologie e della stratificazione dei pazienti sulla base di molteplici parametri, quali: i) l'attività metabolica in base alla captazione del tracciante; ii) valutazione delle caratteristiche anatomiche e funzionali, come diffusività e perfusione, tramite risonanza magnetica (RM) e tomografia computerizzata (TC); iii) valutazione della accuratezza diagnostica, rilevazione e caratterizzazione di lesioni di difficile valutazione con imaging, predizione della risposta alla terapia, prognosi e correlazione con il grading delle patologie. L'estrazione di parametri per la comprensione del fenotipo della patologia e della sua interazione con il microambiente. Indagare il potenziale ruolo diagnostico e prognostico delle variabili ottenibili dalle metodiche di imaging avanzato nella valutazione del rischio cardiovascolare in pazienti oncologici sottoposti a PET/TC total body. Individuare il valore aggiunto dell'analisi multimodale PET-CT-MR nello studio delle patologie neurologiche.

Background: 18F-FDG is the most widely used metabolic tracer in PET diagnostics for diseases with high social impact, particularly in oncology and neurology. Moreover, the development of synthesis methods for tracers specific to metabolic processes other than glucose transporter (GLUT) activity - such as Fluorine-18 labeled compounds like DOPA, Sodium Fluoride, FET, Fluoroethylcholine, PSMA, MISO, and FLT - allows for the exploration of additional metabolic processes and the microenvironment in numerous diseases, significantly expanding the potential of hybrid PET/CT diagnostics and integration with MRI. However, the limited availability of these tracers has restricted the assessment of their clinical impact and the information they can provide in many chronic disease conditions. The advanced radiopharmaceutical production equipment and tomographic imaging technologies available at IRCCS SYNLAB SDN provide the ideal clinical setting to develop and validate clinical protocols aimed at improving the diagnostic pathway for patients - for example, in the study of cardiovascular risk in oncology patients.

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

Hypothesis and Significance: Hypothesis:

We hypothesize that the expanded use of novel Fluorine-18 labeled radiotracers - in addition to conventional 18F-FDG - can significantly enhance the diagnostic capabilities of hybrid PET/CT imaging in chronic disease contexts. Specifically, in a technologically advanced setting such as IRCCS SYNLAB SDN, the integration of these tracers into clinical protocols may uncover previously inaccessible metabolic and microenvironmental information, improving the assessment of conditions like cardiovascular risk in oncology patients.

Significance:

While 18F-FDG remains the cornerstone of PET imaging in high-impact diseases, the limited clinical use of alternative tracers has constrained the full potential of molecular imaging. The availability of cutting-edge radiopharmaceutical production and imaging infrastructure at IRCCS SYNLAB SDN presents a unique opportunity to:

- Validate the clinical utility of underused tracers such as DOPA, Sodium Fluoride, FET, and PSMA in chronic disease diagnostics.
- Enhance the metabolic and microenvironmental characterization of disease processes, particularly in complex patient populations like those with cancer.
- Develop and refine clinical protocols that integrate advanced imaging into routine care, potentially transforming diagnostic pathways.
- Bridge the gap between tracer development and clinical application, accelerating translational research and improving patient outcomes.

Specific Aims: Characterization of pathologies and patient stratification based on multiple parameters, evaluation of diagnostic accuracy, detection and characterization of lesions difficult to evaluate by metabolic and morphological imaging, prediction of response to therapy, prognosis and correlation with disease grading.

Expected outcomes: The clinical role of proposed diagnostic techniques and their integration in the diagnostic-clinical process will be evaluated by identifying specific clinical applications. The diagnostic data will be the object of studies on artificial intelligence applications in order to identify specific diagnostic biomarkers. Exploring the diagnostic and prognostic value of advanced imaging in assessing cardiovascular risk in oncology patients undergoing whole-body PET/CT.

Significance and Innovation: Integration of data deriving from the evaluation of biological systems traced with PET method and morphological-functional ones MRI and CT for a more precise identification of the phenotype oriented to precision medicine.

Translational relevance: Improved accuracy of diagnosis and patient characterization with implications for clinical decision-making aimed at personalized treatment.

6 : Tecniche di imaging avanzato per una dettagliata caratterizzazione clinico-strumentale delle patologie dell'albero vascolare

Responsabile: Cademartiri Filippo

Programma:

Parole chiave: Patologie dell'aorta; risonanza magnetica; tomografia emissione di positroni; diagnostica integrata apparato cardiovascolare; biomarcatori.

Altri enti coinvolti: Università degli Studi di Napoli 'Federico II'

Anno inizio: 2025

Durata: 36

Tipologia: Clinico-Epidemiologica osservazionale

Area di interesse: Diagnostica

Project Classification IRG: Cardiovascular and Respiratory Sciences

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

Project Classification SS: Clinical and Integrative Cardiovascular Sciences - CICS

Descrizione: Le malattie cardiovascolari comprendono tutte le patologie a carico del cuore e dei vasi sanguigni. Le più frequenti sono quelle di origine aterosclerotica, in particolare le malattie ischemiche del cuore, le cardiomiopatie, l'insufficienza cardiaca, le aritmie e le malattie cerebrovascolari. È necessario quindi identificare metodi non invasivi per poter visualizzare e caratterizzare le patologie dell'albero vascolare, in maniera specifica e nelle sedi di interesse della malattia. L'ecocardiografia (US) - Doppler sottosforzo (echo-stress) può risultare essere uno step essenziale per una diagnosi precoce della malattia e sicuramente rappresenta un primo approccio strumentale nelle malattie cardiovascolari. La tomografia computerizzata (TC) è una metodica di imaging che permette un'ottima visualizzazione delle strutture vascolari con conseguente valutazione della patologia associata a tali strutture. Le apparecchiature di ultima generazione consentono inoltre di acquisire immagini anche in pazienti con frequenze cardiache elevate o non stabili con ottimi risultati sia dal punto di vista qualitativo che quantitativo. La risonanza magnetica (RM) consente di valutare l'anatomia cardiovascolare, la cinesi, la perfusione e la vitalità del miocardio attraverso l'utilizzo di sequenze dedicate dalle quali è possibile ricavare parametri di caratterizzazione tissutale utili soprattutto per la diagnosi differenziale, ad esempio la quantificazione del delayed enhancement (DE). La scintigrafia miocardica e la PET cardiaca consentono la valutazione della perfusione, della funzione ventricolare e del metabolismo del tessuto miocardico. Le metodiche di imaging giocano un ruolo fondamentale nella diagnosi, stratificazione del rischio, management e follow-up delle patologie cardiovascolari. Inoltre, l'integrazione delle informazioni ottenute dall'imaging avanzato, con segnali biomedici di routine come quelli estratti dall'elettrocardiogramma (ECG) e l'analisi di biomarcatori periferici, potrebbe fornire ulteriori informazioni utili per la gestione del paziente con patologia cardiovascolare.

Risultati e prodotti conseguiti: Il progetto prevede di acquisire e valutare immagini diagnostiche di tipo avanzato (US, TC, PET, RM) e di correlarle con indicatori biomedici e/o biomarkers periferici.

Attività previste Obiettivo di questo progetto è quello di caratterizzare con tecniche di imaging avanzato le patologie dell'albero cardiovascolare, di confrontare questi dati di imaging con i dati demografici, clinici e strumentali e di predisporre una biobank costituita da plasma, siero e cellule mononucleate di questi pazienti. Saranno arruolati soggetti di entrambi i sessi, di età compresa tra i 18 ed i 90 anni, che non presentino controindicazioni all'esecuzione delle specifiche tecniche di imaging, con funzione renale- espressa come velocità di filtrato glomerulare (eGFR)- > 30 ml/min. Saranno escluse dallo studio donne in gravidanza e durante la fase di allattamento. Per quanto riguarda il protocollo TC, ad esempio, prevederà un'acquisizione prima e dopo l'iniezione di mezzo di contrasto iodato durante un'apnea di circa 7-8 secondi (ECG-gated se indagine seguita su distretto cardio-toracico). Le immagini basali e post-contrasto verranno utilizzate per valutare le strutture vascolari, a seconda dell'indicazione e della tipologia di esame. Per quanto riguarda l'esame RM, il protocollo prevederà uno studio con sequenze dedicate morfologiche e funzionali con e senza la somministrazione di mezzo di contrasto paramagnetico a base di gadolinio. La scintigrafia miocardica verrà eseguita con metodica gated con traccianti di perfusione marcati con tecnezio-99m (Tc-99m), dopo stress con esercizio fisico o farmacologico e in condizioni basali a riposo, con protocollo in singola giornata (all'incirca 1000 MBq, se eseguiti entrambi gli studi). Software dedicati verranno utilizzati per calcolare i parametri di perfusione e di funzione cardiaca. Previa firma di un consenso informato, al momento dell'incannulamento del paziente verranno prelevati da ogni soggetto circa 12 mL di sangue venoso periferico, che verrà conservato nella biobanca dell'IRCCS SYNLAB SDN. Per ogni paziente saranno studiate in maniera combinata le immagini diagnostiche avanzate e poi correlate con biomarcatori periferici.

Background: Cardiovascular diseases include all diseases affecting the heart and blood vessels. Diseases of the pulmonary tree, such as pulmonary hypertension complete with coronary artery disease and aorta the panorama of high-impact cardiovascular-type diseases, represent a severe disease with mixed etiopathogenesis and difficult clinical diagnosis. For each of these cardiovascular conditions, clinical diagnosis remains often challenging, requiring the integration of electrophysiological, imaging and peripheral data.

Hypothesis and Significance: There is a need to identify noninvasive methods to be able to visualize and characterize vascular tree disease, specifically and at the sites of disease interest. Echocardiography (US)-Doppler sub-stress (echo-stress) may prove to be an essential step for early diagnosis of disease and certainly represents a first instrumental approach in cardiovascular disease. Computed tomography (CT) is an imaging method that allows excellent visualization of vascular structures with subsequent evaluation of the pathology associated with these structures. State-of-the-art equipment also allows imaging even in patients with high or unstable heart rates with excellent results both qualitatively and quantitatively. Magnetic resonance imaging (MRI) allows the assessment of cardiovascular anatomy, kinase, perfusion, and myocardial viability through the use of dedicated sequences

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

from which it is possible to derive tissue characterization parameters useful especially for differential diagnosis, e.g., quantification of delayed enhancement (DE). Myocardial scintigraphy and cardiac PET allow the assessment of perfusion, ventricular function, and myocardial tissue metabolism. Imaging methods play a key role in the diagnosis, risk stratification, management, and follow-up of cardiovascular disease. In addition, integration of information obtained from advanced imaging, with routine biomedical signals such as those extracted from electrocardiogram (ECG) and analysis of peripheral biomarkers, could provide additional useful information for the management of the patient with cardiovascular disease.

Specific Aims: 1) Diagnostic accuracy assessment of advanced imaging techniques (US, CT, MRI, Nuclear Medicine) and ECG signals in cardiovascular diseases. 2) Analysis of the radiomic features characterizing the different cardiovascular pathologies. 3) Multivariate diagnostic and prognostic prediction modeling for cardiovascular diseases.

Expected outcomes: The project involves the acquisition and evaluation of different imaging techniques and their correlation with peripheral cardiovascular biomarkers. This approach aims to identify multiparametric panels composed of multiple integrated variables for the characterization and prognostic stratification of patients with cardiovascular pathologies. In the context of integrated diagnostics and technological advancement, new CT acquisition techniques, such as photon counting, will enable better patient evaluation at the diagnostic stage, thus improving prognosis by enhancing risk stratification capabilities. A protocol will be developed to extract quantitative parameters from angiographic acquisitions to assess atherosclerotic disease in major arteries. Various volumes will be extracted, including total plaque volume, calcified and non-calcified plaque volumes, and arterial lumen volume. A remodeling index will be calculated to evaluate structural changes in arteries. The extraction of energy parameters and plaque segmentation will be analyzed through a radiomics processing pipeline. This approach is crucial for assessing the reproducibility and discriminatory power of radiomic features of plaques, in accordance with international standards for imaging biomarkers. Furthermore, it is useful to compare the sensitivity and specificity of the modalities used (e.g., SPECT, cardiac CT, etc.) to design a tailored acquisition protocol for patients with cardiovascular pathologies, limiting radiation dose, contrast agent usage, and other medications.

Significance and Innovation: The search for predictive biomarkers of early cardiovascular damage in patients undergoing diagnostic imaging could introduce new pathology markers that can be obtained non-invasively. This integrated approach between imaging methods and clinical, electrophysiological and peripheral data could be useful to stratify subjects and to improve the diagnostic process.

Translational relevance: Despite improvements in interventional procedures, cardiovascular diseases remain the leading cause of death worldwide. Currently, a promising challenge is the development of effective prevention and early diagnosis with individualized approaches. The identification of new non-invasive markers will be useful in subjects' stratification in order to improve the diagnostic approach. The integration of advanced imaging findings with the information obtained from clinical, electrocardiographic and advanced imaging evaluation will allow a more accurate diagnostic evaluation of the patient. New biomarkers or several biomarkers could be developed and combined with others in an integrated approach aiming to generate "multimarker scores". Furthermore, the non-invasive predictive assessment of at-risk patients will avoid further invasive procedures and reduce health care costs.

7 : Marcatori elettroencefalografici e tecnologie di telemonitoraggio in pazienti con malattie neurodegenerative e con processi infettivi

Responsabile: NOCE GIUSEPPE

Programma:

Parole chiave: Elettroencefalografia (EEG), malattie neurodegenerative, malattie cerebrovascolari, HIV, declino cognitivo, demenza, eLORETA

Altri enti coinvolti: Sapienza Università di Roma, Dipartimento di Fisiologia e Farmacologia 'V. Erspamer'

Anno inizio: 2025

Durata: 36

Tipologia: Clinico-Epidemiologica osservazionale

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

Area di interesse: Diagnostica

Project Classification IRG: Brain Disorders and Clinical Neuroscience

Project Classification SS: Clinical Neuroscience and Neurodegeneration - CNN

Descrizione: Le malattie neurodegenerative (AD, PD, LBD, HD) e rare, come la paraparesi spastica ereditaria (HSP), causano deterioramento progressivo del SNC, con deficit cognitivi, motori e comportamentali. Anche patologie cerebrovascolari e condizioni sistemiche come HIV e COVID-19 possono contribuire al declino cognitivo e alla disfunzione neurologica. Un aspetto rilevante, ma spesso trascurato, è la disregolazione della vigilanza, legata a disfunzioni dei circuiti talamo-corticali, associata a deposizione di amiloide, declino cognitivo, disabilità e aumento del rischio di demenza. Nonostante i progressi nella comprensione dei meccanismi patologici, mancano terapie efficaci, rendendo cruciale l'identificazione di nuovi biomarcatori. L'elettroencefalografia a riposo (rsEEG) è una tecnica non invasiva, economica e ripetibile che consente di studiare i ritmi cerebrali legati alla vigilanza. Negli anziani cognitivamente sani, l'rsEEG mostra ritmi alfa (8 - 12 Hz) nelle regioni posteriori durante la veglia rilassata. Nei pazienti con neurodegenerazione si osservano aumento della potenza delta/theta, rallentamento e riduzione dell'alfa posteriore, in correlazione con il profilo cognitivo (MMSE), con una buona capacità discriminativa (sensibilità/specificità 75 - 90%). Anche in HIV e COVID-19 sono state osservate alterazioni della sincronizzazione e connettività rsEEG.

Risultati e prodotti conseguiti: Alla luce delle suddette premesse, il presente progetto si propone di migliorare il valore clinico dei marcatori EEG corticali nelle malattie neurodegenerative, incluse le patologie cerebrovascolari e alcune condizioni sistemiche (come l'infezione da HIV e il COVID-19), mediante l'impiego di tecniche avanzate di machine learning. Si propone inoltre di studiare l'impatto della riserva cognitiva, del sesso e dell'età sui meccanismi neurofisiologici che regolano la vigilanza nelle fasi prodromiche delle malattie, nonché l'insorgenza di eventuali disturbi della coscienza nelle fasi avanzate o in presenza di comorbidità acute, al fine di esplorare la continuità tra alterazioni della vigilanza e stati patologici più gravi. Infine, il progetto si propone di sviluppare e perfezionare tecnologie di telemonitoraggio e telemedicina per la valutazione e il training delle funzioni cognitive, della motricità quotidiana, del ritmo sonno-veglia e della variabilità della frequenza cardiaca come indicatore di stress cardiovascolare. La validazione di questa ipotesi potrebbe stabilire i ritmi delta e alfa dell'EEG come biomarcatori patologici "P" indicativi di disfunzioni della vigilanza, contribuendo a una nuova dimensione dei biomarcatori all'interno del rinnovato Framework ATN (PMID: 38934362).

Attività previste (i) Registrazioni EEG a riposo (rsEEG) in soggetti con patologie neurodegenerative (comuni e rare) e cerebrovascolari, nonché in soggetti di controllo.
(ii) Analisi quantitativa dei ritmi rsEEG, tramite la stima dell'ampiezza delle sorgenti corticali e la valutazione della connettività tra regioni cerebrali.
(iii) Applicazione di tecniche avanzate di machine learning per la classificazione dei soggetti e l'identificazione di pattern neurofisiologici associati a differenti livelli di vigilanza e stati cognitivi.
(iv) Analisi statistiche.
(iv) Disseminazione dei risultati attraverso pubblicazioni scientifiche su riviste internazionali peer-reviewed e partecipazione a congressi di settore.

Background: Neurodegenerative diseases (AD, PD, LBD, HD) and rare disorders, such as hereditary spastic paraplegia (HSP), cause progressive CNS deterioration, leading to cognitive, motor, and behavioral impairments. Cerebrovascular diseases and systemic conditions like HIV and COVID-19 may also contribute to cognitive decline and neurological dysfunction. A relevant yet often overlooked aspect is vigilance dysregulation, linked to thalamo-cortical circuit dysfunction and associated with amyloid deposition, cognitive impairment, disability, and increased dementia risk. Despite advances in understanding underlying mechanisms, effective disease-modifying therapies are still lacking, highlighting the need for novel biomarkers. Resting-state EEG (rsEEG) is a non-invasive, low-cost, and repeatable tool for investigating brain rhythms related to vigilance. In cognitively healthy older adults, rsEEG typically shows dominant alpha rhythms (8 - 12 Hz) in posterior regions during relaxed wakefulness. In neurodegenerative conditions, including Huntington's disease, alterations such as increased delta/theta power, slowed and reduced posterior alpha, and correlations with cognitive status (MMSE) have been reported, showing good discriminatory accuracy (sensitivity/specificity 75 - 90%). In HIV and COVID-19, rsEEG alterations in synchronization and connectivity have also been documented.

Hypothesis and Significance: Hypotheses:
(i) rsEEG markers, combined with demographic and clinical features, can characterize different stages of

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

vigilance dysfunction in patients with neurodegenerative (common and rare) and cerebrovascular diseases;
(ii) these rsEEG markers can reflect the effects of aging, sex, and cognitive reserve on brain arousal regulation mechanisms in prodromal and advanced disease stages;
(iii) rsEEG markers are sensitive to comorbid acute conditions affecting consciousness and may contribute to stratifying patients at risk for rapid cognitive and functional decline.

Significance:

rsEEG markers could enhance our understanding of cortical neural synchronization and cortico-cortical connectivity abnormalities underlying fluctuations in vigilance and consciousness. This knowledge may contribute to defining new EEG-based physiological markers for early diagnosis, prognosis, and therapeutic monitoring in patients with neurodegenerative and cerebrovascular diseases.

Specific Aims: The aim is to continue the research activities carried out in the recent years by our group in this field:

- (i) to quantify alterations in rsEEG rhythms across diagnostic groups and disease stages in patients with neurodegenerative and cerebrovascular diseases, as well as in systemic conditions affecting the central nervous system, such as HIV infection and COVID-19;
- (ii) to assess the impact of sex, age, and cognitive reserve on the neurophysiological mechanisms regulating vigilance, particularly in the prodromal stages of disease;
- (iii) to develop and apply machine learning approaches for classifying patients and identifying EEG-based signatures of vigilance and consciousness impairment;
- (iv) to validate EEG markers in the context of telemonitoring systems aimed at evaluating and training cognitive and motor functions, sleep-wake cycles, and heart rate variability.

Expected outcomes: We expect to identify specific rsEEG patterns that reflect alterations in vigilance regulation in neurodegenerative and cerebrovascular disorders. These patterns may:

- (i) Differentiate pathological from healthy aging based on distinct frequency bands;
 - (ii) Be modulated by individual factors such as cognitive reserve, sex, and age, enhancing personalized profiling;
 - (iii) Predict the onset or worsening of vigilance and consciousness disturbances, supporting early intervention strategies;
 - (iv) Guide the design of personalized therapeutic and rehabilitative interventions, such as non-pharmacological approaches to stabilize sleep-wake rhythms (e.g., light therapy, cognitive training, neurofeedback), or pharmacological treatments for arousal dysregulation;
 - (v) Support remote monitoring and timely clinical decision-making through integration into telehealth platforms.
- By linking neurophysiological markers to functional outcomes, the project aims to inform actionable strategies to mitigate disease progression and optimize patient care.

Significance and Innovation: This project will expand the role of rsEEG rhythms as physiological biomarkers of vigilance and arousal dysfunctions in patients with neurodegenerative and cerebrovascular diseases, as well as in systemic conditions affecting the central nervous system. Its innovative aspects include:

- (i) Investigating underexplored clinical populations (e.g., hereditary spastic paraplegia) and their neurophysiological phenotypes;
- (ii) integrating rsEEG data with digital health tools for real-time, home-based assessments of cognitive and behavioral states;
- (iii) defining novel EEG-derived metrics for early detection of dysregulation in consciousness, potentially usable in clinical scoring systems or AI-based decision support;
- (iv) exploring vigilance regulation along a continuum, from subtle fluctuations to pathological impairments, enabling dynamic patient stratification;
- (v) facilitating the development of precision medicine pathways, including personalized cognitive stimulation programs, chronotherapy, and real-time neurophysiological feedback systems.

These advances may open new avenues for individualized care, enabling earlier diagnosis and more effective, patient-tailored treatment strategies.

Translational relevance: Monitoring vigilance dysfunction with rsEEG offers a cost-effective, non-invasive, and repeatable tool for managing neurodegenerative, cerebrovascular, and systemic CNS conditions. Unlike costly imaging or invasive biomarkers, rsEEG provides immediate cortical function insights bedside or remotely. This project supports early detection, patient stratification, and treatment monitoring aligned with SSN priorities: (i) managing chronic age-related

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

conditions; (ii) improving equity via telemonitoring reducing access barriers; (iii) optimizing resources by timely risk identification; (iv) cutting healthcare costs through fewer hospitalizations and home interventions; (v) enabling integrated care across neurology, rehab, and telemedicine. Integrating rsEEG into digital health can transform care and quality of life for vulnerable patients, advancing a sustainable, personalized National Health System.

Linea di ricerca n. 3 : Biotecnologie e metodi computazionali a supporto della medicina personalizzata

1 : Studio dei Meccanismi Epigenetici e Molecolari nelle Malattie Cardiovascolari

Responsabile: D'AGOSTINO ANNA

Programma:

Parole chiave: Diagnostica, Cardiovascolare, Epigenetica

Altri enti coinvolti: AOU Federico II

Anno inizio: 2025

Durata: 36

Tipologia: Metodologica

Area di interesse: Diagnostica

Project Classification IRG: Cardiovascular and Respiratory Sciences

Project Classification SS: Clinical and Integrative Cardiovascular Sciences - CICS

Descrizione: Il progetto mira a indagare il ruolo delle modificazioni epigenetiche nello sviluppo e nella progressione delle malattie cardiovascolari, con focus su aterosclerosi e stenosi aortica. Metilazione del DNA, modifiche degli istoni e microRNA sono meccanismi chiave nella regolazione genica, influenzati da ambiente, stile di vita e condizioni patologiche.

L'analisi dei profili epigenetici offre nuove prospettive per comprendere i meccanismi molecolari delle patologie cardiovascolari, consentendo l'identificazione di biomarcatori per diagnosi precoce, stratificazione del rischio e terapie personalizzate. Il progetto prevede lo studio delle alterazioni epigenetiche in soggetti sani, pazienti con diversi gradi di patologia e casi avanzati di aterosclerosi.

L'integrazione dei dati molecolari con informazioni cliniche e demografiche favorirà una visione sistemica e traslazionale della malattia. Inoltre, l'analisi delle cellule vascolari di pazienti con forme avanzate aiuterà a chiarire i meccanismi funzionali e infiammatori associati.

L'obiettivo finale è contribuire alla medicina di precisione cardiovascolare, individuando nuovi target diagnostici e terapeutici e promuovendo interventi mirati basati sul profilo epigenetico individuale.

Risultati e prodotti conseguiti: 1. Identificazione di biomarcatori epigenetici associati alla patologia aterosclerotica:

- Rilevamento di differenze epigenetiche e trascrittomiche (via RNA-seq e ATAC-seq) tra gruppi di pazienti con assenza di patologia, patologia non ostruttiva e patologia ostruttiva, mediante analisi su PBMCs.
 - Individuazione di signature molecolari potenzialmente utili come marcatori diagnostici o prognostici.
2. Correlazione tra accessibilità cromatinica e profili di espressione genica:
- Integrazione dei dati omici per comprendere i meccanismi regolatori che guidano la progressione della malattia aterosclerotica.
 - Evidenza di regioni regolatrici coinvolte in processi infiammatori, immunitari o metabolici rilevanti per la patogenesi cardiovascolare.
3. Validazione funzionale dei target molecolari:
- Conferma del ruolo di geni e pathway chiave in modelli cellulari in vitro, attraverso analisi funzionali e fenotipiche.
4. Caratterizzazione epigenetica e funzionale dei fibroblasti tissutali:
- Profilazione omica (RNA-seq, ATAC-seq) dei fibroblasti isolati da pazienti con patologie cardiovascolari avanzate.
 - Confronto con fibroblasti di soggetti sani per identificare signature associate a stati patologici cronici.
5. Generazione e caratterizzazione di cellule vascolari da iPSCs:

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

- Ottenimento di cellule endoteliali e cellule muscolari lisce a partire da fibroblasti riprogrammati.
- Studio dei meccanismi epigenetici che contribuiscono alla trasmissione di fenotipi patologici nelle cellule vascolari.
- 6. Valutazione dell'effetto di composti naturali su infiammazione endoteliale:
 - Analisi dell'effetto della spirulina e di altri composti naturali selezionati sulla risposta infiammatoria di cellule endoteliali (HUVEC).
 - Osservazione di modificazioni nei pathway infiammatori e nei profili epigenetici cellulari, con possibile identificazione di composti ad attività anti-aterosclerotica.
- 7. Contributi potenziali alla medicina personalizzata:
 - Produzione di dati utili per lo sviluppo di strategie diagnostiche, prognostiche e terapeutiche personalizzate basate su profili epigenetici individuali.
 - Proposta di nuovi bersagli terapeutici o nutraceutici per la prevenzione e gestione dell'aterosclerosi.

Attività previste Nel presente studio, verranno analizzati marcatori epigenetici a partire da cellule mononucleate del sangue periferico (PBMCs) isolate da pazienti sottoposti a cardio-TC presso il nostro istituto. I partecipanti verranno classificati in tre gruppi distinti sulla base dei risultati della tomografia computerizzata cardiaca:

1. Assenza di patologia
2. Patologia non ostruttiva
3. Patologia ostruttiva

L'obiettivo principale sarà l'identificazione di biomarcatori epigenetici distintivi tra i diversi gruppi di pazienti. A tal fine, verranno condotti esperimenti di profilazione omica tramite RNA-seq e ATAC-seq, al fine di individuare specifiche signature epigenetiche e trascrittomiche associate a ciascun fenotipo. L'integrazione dei dati ottenuti permetterà di correlare l'accessibilità cromatinica con l'espressione genica, contribuendo a chiarire i meccanismi regolatori alla base della patologia aterosclerotica.

I risultati più rilevanti verranno validati in modelli cellulari in vitro, per confermare il ruolo funzionale dei geni identificati e valutarne il potenziale utilizzo come biomarcatori diagnostici o prognostici.

Un ulteriore aspetto del progetto prevede l'analisi della signature epigenetica dei fibroblasti tissutali isolati da biopsie di pazienti con aterosclerosi avanzata o altre patologie cardiovascolari che necessitano di intervento chirurgico risolutivo. I fibroblasti, ottenuti da tessuti specifici, verranno espansi in coltura e caratterizzati fenotipicamente e funzionalmente. Anche in questo caso, verranno eseguite analisi di RNA-seq e ATAC-seq per confrontare i profili epigenetici di fibroblasti patologici rispetto a quelli derivati da donatori sani.

Successivamente, i fibroblasti verranno sottoposti a riprogrammazione cellulare per ottenere cellule staminali pluripotenti indotte (iPSCs), da cui verranno differenziate cellule vascolari, in particolare cellule endoteliali e cellule muscolari lisce. Questo approccio permetterà di indagare i meccanismi molecolari coinvolti nell'acquisizione e nella trasmissione delle signature epigenetiche durante lo sviluppo della malattia vascolare.

Infine, verrà valutato l'effetto di composti naturali selezionati sullo stato infiammatorio endoteliale. Le cellule endoteliali (HUVEC) verranno esposte a questi composti per studiarne l'impatto su pathway infiammatori e rimodellamento epigenetico, con l'obiettivo di identificare potenziali attività anti-aterosclerotiche e di delinearne i meccanismi molecolari.

Background: Epigenetic modifications, such as DNA methylation, histone changes, and microRNAs, regulate gene expression and play a key role in cardiovascular diseases. Studying these mechanisms helps reveal how lifestyle and environment influence gene activity, offering opportunities to identify biomarkers for early diagnosis and tailored therapies. In conditions like atherosclerosis and hypertension, epigenetic biomarkers could guide new strategies for diagnosis and prognosis. Early atherosclerosis involves monocyte and T cell accumulation in vessel walls, promoting plaque. Patients with acute coronary syndrome show elevated CD14+ CD16+ CCR2+ monocytes (Mon2), which recruit leukocytes, activate NF-κB signaling, and release pro-inflammatory cytokines. However, the molecular mechanisms of monocyte activation remain partly unclear. This study explores the role of epigenetic modifications in atherosclerosis and aortic stenosis, aiming to identify new diagnostic and prognostic markers. Using advanced omics, the project will analyze epigenetic changes in vascular tissue under atherosclerotic stress and correlate them with disease severity and patient data. This integrated approach supports the development of personalized management strategies for cardiovascular diseases.

Hypothesis and Significance: Epigenetic modifications contribute to cardiovascular disease by affecting inflammation, vascular dysfunction, and cellular activation. It is hypothesized that patients with atherosclerosis show distinct epigenetic profiles, detectable in PBMCs and vascular fibroblasts. These signatures may correlate with disease severity and serve as diagnostic and therapeutic biomarkers.

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

This project bridges epigenetics, molecular biology, and cardiovascular medicine to fill key gaps in our understanding of atherosclerosis. Identifying epigenetic patterns may improve early diagnosis, risk stratification, and uncover molecular drivers of disease.

The translational design links clinical data with molecular analysis to support personalized treatment strategies. Additionally, the impact of natural compounds on endothelial inflammation will be explored, opening new therapeutic paths.

- Specific Aims:**
1. To identify distinct epigenetic profiles in patients with cardiovascular diseases.
Analyze peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) from patients undergoing cardiac CT at our institute, stratified into three groups (no disease, non-obstructive disease, obstructive disease), in order to identify epigenetic signatures specific to each clinical phenotype.
 2. To integrate transcriptomic and epigenomic data to understand gene regulation.
Employ omics approaches (RNA-seq and ATAC-seq) to assess gene expression and chromatin accessibility in PBMCs, and integrate the data to uncover altered molecular pathways associated with different stages of cardiovascular disease.
 3. To validate identified genes and pathways in cellular in vitro models.
Validate the potential biomarkers and epigenetic signatures in cellular models to investigate the underlying molecular mechanisms and assess their functional significance.
 4. To characterize epigenetic alterations in vascular fibroblasts from patients with advanced atherosclerosis.
Analyze the epigenetic and transcriptomic profiles of fibroblasts isolated from diseased vascular tissues and compare them with fibroblasts from healthy donors to uncover disease-associated epigenetic features.
 5. To explore the therapeutic potential of natural compounds.
Evaluate the effects of selected natural products on endothelial inflammation and function, investigating the associated epigenetic mechanisms and their possible role in modulating atherosclerosis progression.

- Expected outcomes:** This project is expected to provide valuable insights into the epigenetic mechanisms underlying cardiovascular diseases, particularly atherosclerosis.
- The anticipated outcomes are as follows:
1. Identification of Epigenetic Signatures in Cardiovascular Disease.
By analyzing PBMCs and tissue-derived fibroblasts from patients with both obstructive and non-obstructive atherosclerotic disease, we expect to identify distinct epigenetic profiles that correlate with disease severity. These signatures will provide a deeper understanding of the molecular mechanisms driving disease progression.
 2. Discovery of Novel Biomarkers.
The identification of specific epigenetic modifications will potentially reveal novel biomarkers that can be used for early diagnosis, disease stratification, and prognosis of cardiovascular diseases. These biomarkers may also serve as targets for therapeutic interventions, improving patient outcomes.
 3. Improvement in Patient Stratification and Personalized Medicine.
The integration of epigenetic data with clinical and demographic information will allow for better patient stratification based on disease risk and severity. This will pave the way for personalized approaches in managing cardiovascular diseases, ensuring that treatments are tailored to individual patients' profiles.
 4. Characterization of Disease-Specific Endothelial Cell Models.
By differentiating iPSCs into endothelial cells from diseased and healthy tissue, we expect to develop reliable in vitro models that accurately represent the pathological state of the vasculature in cardiovascular diseases. These models will allow for further exploration of disease mechanisms and potential therapeutic interventions.
 5. Effect of Natural Compounds on Inflammatory Endothelial State.
The project will explore the impact of natural compounds, such as spirulina, on the inflammatory state of endothelial cells, potentially uncovering new therapeutic strategies for preventing or treating atherosclerosis. This could lead to novel preventative or adjunct therapies that target the inflammatory processes in vascular diseases.

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

6. Development of Advanced Disease Models.

Through the establishment of both 2D and 3D in vitro models, we anticipate creating more accurate representations of cardiovascular diseases, facilitating drug testing and the evaluation of therapeutic strategies in a controlled environment.

7. Contributions to Cardiovascular Disease Understanding.

Overall, this project will contribute to the growing body of knowledge on the role of epigenetic changes in cardiovascular diseases, offering new insights into disease mechanisms, diagnostic tools, and potential therapeutic targets.

Significance and Innovation: The research program will focus on the role of epigenetic markers correlated with the extent and severity of cardiovascular diseases (CVDs). This will facilitate the development of personalized approaches to manage individual patients, enabling tailored treatments based on their specific epigenetic profiles.

Translational relevance: This research will advance knowledge and tools for managing CVDs, including CAD and atherosclerosis, within the National Health System (SSN). Given the high prevalence and cost of CVDs, early-stage interventions are essential. By identifying epigenetic biomarkers linked to disease onset and progression, the project supports personalized medicine through early detection and tailored treatments. This approach could improve outcomes and reduce the burden on patients and the healthcare system. Translating these findings into practice may enhance clinical management of CVDs, lower late-stage care costs, and promote a precision-driven strategy in cardiovascular health.

2 : Nuove Strategie per la Diagnosi Precoce e la Prognosi del Cancro: Biomarcatori, Aptameri e Vescicole Extracellulari

Responsabile: Nuzzo Silvia

Programma:

Parole chiave: Cancro, biomarcatori, vescicole extracellulari, aptameri, diagnosi precoce, RNA non codificanti.

Altri enti coinvolti: CNR-IEOS

Anno inizio: 2025

Durata: 36

Tipologia: Metodologica

Area di interesse: Diagnostica

Project Classification IRG: Oncology 1 - Basic Translational

Project Classification SS: Tumor Cell Biology - TCB

Descrizione: In accordo con quanto stimato dall'Organizzazione Mondiale della salute, solo nell'anno 2022 ci sono stati quasi 20 milioni di nuovi casi di cancro ed i decessi per cancro sono saliti a 9,7 milioni [World Health Organization; 2022]. Sebbene i progressi in oncologia abbiano migliorato la gestione della malattia, permane la necessità di strumenti diagnostici più efficaci, precoci e minimamente invasivi per incrementare le prospettive di sopravvivenza dei pazienti. In questo contesto il progetto prevede sia l'individuazione e caratterizzazione di nuove features (firme molecolari) tumorali che l'applicazione di strategie di delivery con scopi diagnostici e terapeutici. Nel dettaglio il progetto si articola in due macroaree:

1. L'identificazione e caratterizzazione di nuovi biomarcatori tumorali, inclusi quelli circolanti, per facilitare diagnosi precoci mediante l'utilizzo della biopsia liquida.
2. Lo sviluppo di nuove strategie diagnostiche e terapeutiche basate sull'uso di aptameri e vescicole extracellulari come strumenti di somministrazione mirata.

Gli aptameri sono ormai noti come strumenti di delivery grazie alla loro capacità di legare ed inibire specifici recettori di superficie, inoltre sono semplici da modificare per aumentarne la stabilità in vivo e non sono immunogeni. Le vescicole extracellulari invece stanno emergendo negli ultimi anni e grazie alla grande biocompatibilità e stabilità si stanno affermando come efficaci strumenti di delivery.

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

Risultati e prodotti conseguiti: - Caratterizzazione di biomarcatori associati alle vescicole extracellulari (EVs).
- Identificazione di nuovi aptameri per il targeting selettivo di cellule tumorali.
- Sfruttamento di EVs da matrici naturali come vettori teranostici.

Attività previste Obiettivo 1: Identificazione e caratterizzazione di nuovi biomarcatori tumorali.

L'obiettivo è individuare biomarcatori specifici per diversi tumori solidi, come il carcinoma mammario e polmonare, attraverso approcci di proteomica e sequenziamento avanzato (miRNA, circRNA). Verranno analizzate sia cellule tumorali che vescicole extracellulari ottenute da pazienti oncologici e controlli sani. La selezione dei biomarcatori più promettenti sarà seguita da test di validazione in vitro ed in silico per valutarne sensibilità e specificità, con particolare attenzione ai marcatori circolanti per la diagnosi mediante biopsia liquida. Un focus di studio sarà l'identificazione di biomarcatori differenzialmente espressi tra tumori sensibili e resistenti alle terapie con l'obiettivo di individuare nuove strategie di diagnosi e stratificazione dei pazienti.

Obiettivo 2: Sviluppo di aptameri per il riconoscimento selettivo di biomarcatori tumorali.

L'uso di aptameri sarà esplorato per la rilevazione mirata di biomarcatori associati al cancro, in particolare quelli identificati nell'Obiettivo 1. Queste molecole saranno selezionate e caratterizzate per ottimizzarne l'affinità e la specificità, con lo scopo di sviluppare nuovi strumenti diagnostici in grado di migliorare l'individuazione precoce della malattia.

Obiettivo 3: Uso di aptameri e vescicole extracellulari come vettori di molecole secondarie.

Una delle principali sfide nella terapia oncologica è il targeting selettivo delle cellule tumorali, evitando effetti collaterali sui tessuti sani. A tal fine, il progetto esplorerà nuove strategie basate su aptameri e vescicole extracellulari per il trasporto e il rilascio di molecole terapeutiche (ad esempio, miRNA, siRNA, traccianti tumorali). Le EVs, grazie alla loro capacità di attraversare le barriere biologiche e alla loro bassa immunogenicità, rappresentano una piattaforma particolarmente promettente per il trasporto di agenti terapeutici, contribuendo a migliorare l'efficacia e la sicurezza dei trattamenti oncologici.

Background: According to estimates by the World Health Organization, in the year 2022 alone there were almost 20 million new cancer cases and cancer deaths rose to 9.7 million [World Organization Mondiale della Sanità; 2022]. Although advances in oncology have improved the management of the disease, the need for more effective, early, and minimally invasive diagnostic tools remains to increase the survival prospects of patients.

In this context, the project involves both the identification and characterization of new features (molecular signatures) molecular) tumor signatures and the application of delivery strategies for diagnostic and therapeutic purposes. In the In detail, the project is divided into two main macro areas:

1. The identification and characterization of new tumor biomarkers, including circulating ones, to facilitate early diagnosis through the use of liquid biopsy. The development of new diagnostic and therapeutic strategies based on the use of aptamers and extracellular vesicles as targeted delivery tools.
2. Aptamers are now well-known as delivery tools thanks to their ability to bind and inhibit specific surface receptors, moreover they are easy to modify to increase their in vivo stability and they are not immunogenic]. Extracellular vesicles, on the other hand, are emerging in recent years and thanks to their great biocompatibility and stability, they are establishing themselves as effective delivery tool.

Hypothesis and Significance: Developing strategies for early cancer detection and effective therapy remains an urgent issue in oncology. Here, we will develop two macro-areas (i) the identification and characterisation of new tumor biomarkers that can be found also in plasma to improve cancer early diagnosis, (ii) the selection and characterization of new aptamer-based diagnostic and therapeutic approaches.
i. Biomarkers discovery. To identify new biomarkers that can also be found in plasma samples, the project plans the molecular characterisation (protein markers, miRNAs, tRNAs) of tumor cells and their microenvironment. A specific focus will include the characterisation of an emerging class of extracellular vesicles called extracellular vesicles, containing nucleic acids, lipids and proteins. ii. Selection and characterisation of new strategies for diagnostic and therapeutic purposes. We aim to develop new approaches of diagnosis and therapy based on oligonucleotides and extracellular vesicles (EVs).

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

Specific Aims: Objective 1: Identification and characterization of new tumor biomarkers. The objective is to identify specific biomarkers for various solid tumors, such as breast carcinoma breast and lung, through proteomics and advanced sequencing approaches (miRNA, circRNA). Both tumor cells and extracellular vesicles obtained from patients will be analyzed. oncological patients and healthy controls. The selection of the most promising biomarkers will be followed by tests in vitro and in silico validation to assess their sensitivity and specificity, with particular attention to circulating markers for diagnosis through liquid biopsy. A focus of the study will be the identification of differentially expressed biomarkers between therapy-sensitive and therapy-resistant tumors with the aim to identify new strategies for diagnosis and patient stratification.

Objective 2: Development of aptamers for the selective detection of cancer biomarkers. The use of aptamers will be explored for the targeted detection of cancer-associated biomarkers, in particularly those identified in Objective 1. These molecules will be selected and characterised to optimise their affinity and specificity, with the aim of developing new diagnostic tools capable of able to improve early detection of the disease.

Objective 3: Use of aptamers and extracellular vesicles as vectors for secondary molecules. One of the main challenges in cancer therapy is the selective targeting of tumour cells, while avoiding side effects on healthy tissue. To this end, the project will explore new strategies based on aptamers and extracellular vesicles for the transport and delivery of therapeutic molecules (e.g. miRNAs, siRNAs, tumour tracers). EVs, due to their ability to cross biological barriers biological barriers and their low immunogenicity, represent a particularly promising platform promising platform for the delivery of therapeutic agents, helping to improve the efficacy and safety of cancer treatments.

Expected outcomes: Identification of novel tumor biomarkers, including circulating biomarkers detectable through liquid biopsy, with high specificity and sensitivity for early-stage solid tumors such as breast and lung cancer.
Characterization of extracellular vesicles (EVs) as carriers of diagnostic and prognostic signatures (e.g., miRNA, circRNA, protein markers), enabling stratification of patients based on therapy response.
Selection and optimization of aptamers for the recognition of tumor-specific biomarkers, allowing the development of next-generation diagnostic tools.

Significance and Innovation: This project addresses a critical gap in oncology: the lack of effective and minimally invasive tools for early cancer detection and targeted therapy. The proposed research is innovative for several reasons:

- Integration of liquid biopsy and omics approaches to identify early and circulating cancer biomarkers, offering a non-invasive alternative to traditional tissue biopsies.
- Exploration of extracellular vesicles as both biomarkers and delivery vehicles, leveraging their intrinsic biocompatibility, molecular content, and ability to traverse biological barriers.
- Use of aptamers as a flexible platform for both diagnostics and therapeutics, overcoming limitations associated with antibodies (e.g., immunogenicity, production costs).
- Focus on therapy-resistant tumor phenotypes, a clinically relevant aspect often neglected in early-stage diagnostic research.
- Modular and adaptable delivery strategies that can be rapidly tuned for different tumor types or molecular targets.

Translational relevance: The translational potential of the project is substantial, with expected benefits for both patients and the healthcare system:

- Early detection and better stratification of cancer patients will enable timely and more effective interventions, ultimately improving survival rates and reducing disease burden.
- Minimally invasive diagnostics (e.g., liquid biopsy) will reduce the need for costly and risky invasive procedures, aligning with SSN priorities for preventive and personalized medicine.
- Improved therapeutic targeting using aptamer- or EV-based delivery systems has the potential to decrease adverse drug reactions, lower systemic toxicity, and reduce hospitalization times and healthcare costs.
- Platform technologies developed in this project could be extended to other diseases beyond oncology, promoting a sustainable pipeline of innovation within the SSN framework.

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

3 : Sviluppo di agenti diagnostici multimodali per bioimaging avanzato

Responsabile: GALLO ENRICO

Programma:

Parole chiave: Imaging a risonanza magnetica (MRI), agenti di contrasto (CAs), CEST, imaging a fluorescenza (FI), target diagnostici, peptidi, bioimaging, aggregati, idrogel, nanoparticelle.

Altri enti coinvolti: Università degli studi di Napoli Federico II
Università degli studi di Torino

Anno inizio: 2025

Durata: 36

Tipologia: Metodologica

Area di interesse: Diagnostica

Project Classification IRG: Healthcare Delivery and Methodologies

Project Classification SS: Health Services Organization and Delivery - HSOD

Descrizione: Il bioimaging include tecniche avanzate per acquisire e analizzare immagini strutturali e funzionali di sistemi biologici, con un ruolo chiave nella diagnosi precoce, specialmente in ambito oncologico. Tra queste, l'Imaging a Risonanza Magnetica (MRI) e l'Imaging a Fluorescenza (FI) sono tra i più rilevanti, pur presentando limiti: FI ha bassa penetrazione nei tessuti, mentre MRI ha limitata sensibilità. L'uso di mezzi di contrasto paramagnetici (Gd(III), Mn(II), Fe(III)) e l'effetto CEST migliorano le performance. Le nanotecnologie offrono nuove soluzioni, permettendo di veicolare agenti diagnostici e di creare strutture selettive per specifici target. Il progetto propone lo sviluppo di sonde innovative per FI e MRI, nonché agenti multimodali per integrare le due tecniche. Saranno esplorati sistemi supramolecolari autoassemblanti (nanofibre, idrogel, nanosfere) a base di peptidi/proteine per ottenere materiali biocompatibili e funzionali. Le formulazioni saranno testate in vitro/in vivo per valutare efficacia diagnostica e impiego nella rigenerazione tissutale e formazione di organoidi. Saranno inoltre sviluppati complessi non covalenti con agenti clinici esistenti per migliorarne la sicurezza e accelerarne l'applicazione clinica, esplorando anche nuove opzioni a base di Fe(III), Mn(II) e CEST eteronucleare (F-19, P-31).

Risultati e prodotti conseguiti: Il progetto di ricerca si propone di sviluppare nuovi agenti diagnostici innovativi per applicazioni avanzate di bioimaging, concentrandosi su tre tecnologie chiave: Imaging a Fluorescenza (FI), Imaging a Risonanza Magnetica con Mezzo di Contrasto (MRI) e MRI basata sull'effetto CEST (Chemical Exchange Saturation Transfer). Queste metodologie, oggi fondamentali nella diagnostica clinica e nella ricerca biomedica, sono complementari tra loro e offrono diversi vantaggi, ma presentano anche limitazioni che il progetto intende superare.

L'obiettivo principale è duplice:

- Migliorare la qualità delle immagini diagnostiche, in termini di risoluzione spaziale, contrasto e sensibilità, al fine di ottenere una visualizzazione più accurata e precoce di alterazioni patologiche nei tessuti biologici, in particolare nel contesto oncologico;
- Aumentare la sicurezza d'uso in vivo degli agenti diagnostici, mediante lo sviluppo di formulazioni biocompatibili, biodegradabili e con un profilo farmacocinetico ottimizzato, minimizzando la tossicità e i possibili effetti avversi.

Per l'imaging a fluorescenza (FI), saranno progettate sonde molecolari ad alta intensità di emissione e stabilità fotofisica, in grado di fornire immagini dettagliate anche in profondità, mediante l'utilizzo di fluorofori ottimizzati e strategie di targeting selettivo verso specifici biomarcatori tumorali.

Nel campo della MRI, si lavorerà alla sintesi di nuovi mezzi di contrasto paramagnetici basati su metalli alternativi a quelli comunemente utilizzati (come Fe(III) e Mn(II) al posto del più comune Gd(III)), per aumentare la sicurezza e migliorare la sensibilità del segnale.

In parallelo, il progetto esplorerà l'impiego di agenti CEST, capaci di generare contrasto sfruttando lo scambio chimico di protoni tra molecole e acqua, e si spingerà verso l'uso di nuclei diversi dall'idrogeno, come fluoro-19 (¹⁹F) e fosforo-31 (³¹P), aprendo nuove prospettive per un imaging altamente specifico e privo di rumore di fondo endogeno.

Gli agenti sviluppati saranno integrati in piattaforme supramolecolari (come nanofibre, idrogeli, nanoparticelle) ottenute

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

tramite autoassemblaggio di peptidi o polimeri biocompatibili, che consentiranno una veicolazione mirata e multifunzionale. Il progetto prevede infine una valutazione approfondita in vitro e in vivo delle nuove formulazioni, con particolare attenzione alla stabilità, alla biodistribuzione e alla degradazione controllata. Queste ricerche contribuiranno alla creazione di strumenti diagnostici più sicuri, efficaci e pronti per una futura traslazione clinica.

Attività previste Le attività di ricerca saranno articolate in cinque fasi principali, finalizzate allo sviluppo e alla caratterizzazione di nuovi agenti diagnostici per applicazioni in bioimaging, con particolare attenzione a MRI, CEST-MRI e fluorescenza.

1. Progettazione e sintesi di peptidi funzionali

Saranno progettate e sintetizzate unità strutturali peptidiche per formare architetture supramolecolari. La sintesi sarà eseguita mediante SPPS (Solid Phase Peptide Synthesis) secondo protocolli Fmoc/tBu. Agenti chelanti ciclici (es. DOTA, DTPA) verranno coniugati direttamente ai peptidi tramite i relativi derivati protetti. I peptidi saranno ulteriormente funzionalizzati con polimeri, PEG o altri gruppi chimici rilevanti. I prodotti saranno purificati tramite HPLC e caratterizzati con spettrometria di massa LC-MS.

2. Formulazione e caratterizzazione delle nanostrutture

La capacità dei peptidi sintetizzati di autoassemblarsi in nanostrutture sarà studiata sia in soluzione sia allo stato solido. Verranno utilizzate tecniche biofisiche avanzate, tra cui: UV-Vis, dicroismo circolare (CD), FTIR, fluorescenza, DLS, SEM e WAXS. Verranno valutate anche la stabilità e la biodegradabilità delle strutture ottenute in condizioni fisiologiche.

3. Analisi funzionale per imaging (FI e MRI)

Le proprietà fotoluminescenti dei materiali saranno studiate in soluzione e allo stato solido mediante spettroscopia di fluorescenza. Saranno realizzati film e fibre peptidiche per testare la resistenza al photobleaching. I materiali più promettenti saranno studiati anche come componenti per dispositivi optoelettronici. Le proprietà rilassometriche dei composti saranno caratterizzate mediante misure NMR in diverse condizioni di pH e temperatura. I candidati migliori verranno testati in vitro su colture cellulari e in vivo su modelli animali.

4. Sviluppo di agenti di contrasto privi di Gd(III)

Saranno progettati nuovi mezzi di contrasto MRI a base di Fe(III) e Mn(II), valutandone proprietà chimico-fisiche, biocompatibilità e citotossicità. Verranno anche sviluppate applicazioni per CEST-MRI, esplorando composti alternativi e strategie di targeting per migliorare sensibilità, specificità e biodistribuzione.

5. Ottimizzazione di protocolli MRI basati su CEST modulato da agenti paramagnetici

Saranno sviluppati protocolli innovativi che sfruttano la modulazione della risposta CEST mediante l'iniezione di agenti paramagnetici (come complessi di Gd, Fe(III) o Ferumoxytol). L'effetto CEST sarà analizzato in relazione alla permeabilità delle membrane cellulari e alla dinamica dell'acqua intracellulare, con l'obiettivo di ottenere informazioni diagnostiche legate all'attività di trasportatori di membrana e al metabolismo cellulare.

Background: Bioimaging includes modalities such as fluorescence imaging (FI), magnetic resonance imaging (MRI), computed tomography (CT), positron emission tomography (PET), single-photon emission computed tomography (SPECT), and ultrasound (US), all essential for medical diagnostics.

MRI is a noninvasive technique with excellent spatial and temporal resolution. Based on nuclear magnetic resonance, it detects hydrogen nuclei signals in water under magnetic fields. Gradient fields allow spatial encoding and 3D reconstruction. Contrast agents (CAs), classified as T1 or T2, enhance image quality. Paramagnetic ions like Gd(III) shorten T1 relaxation, yielding bright signals; SPIOs act as T2 agents, enhancing T2 relaxation and darkening signals. Relaxivity measures a CA's effect on proton relaxation at 1 mM.

Though MRI offers deep tissue penetration and high contrast, it has lower sensitivity than optical or nuclear methods.

Increasing local CA concentration or relaxivity improves performance. Due to Gd(III) toxicity, alternatives such as Fe(III), Mn(II), and CEST agents - producing contrast via saturation transfer from exchangeable protons - are under study.

FI provides high sensitivity and real-time imaging but poor penetration. To address this, multimodal MRI-FI nanoprobe integrates anatomical and functional imaging for improved diagnostics.

Hypothesis and Significance: Nanotechnology has recently emerged as a promising approach for developing multimodal platforms. Novel nanomaterials have been recognized as potentially valuable pharmaceutical tools, not only for enhancing bioimaging performance but also for expanding its application range. Materials such as liposomes, polymeric micelles, hydrogels, nanogels, and fibers are being explored as tracers, markers, or contrast agents for both in vitro and in vivo optical biological imaging.

These nanomaterials offer several advantages, including tunable physical properties (e.g., luminescence and ferromagnetism), high stability (e.g., resistance to photobleaching), and the ability for easy chemical modification with targeting entities or probes. This latter feature allows the creation of nanostructures that can

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

integrate multiple functions within a single supramolecular system.

Furthermore, nanostructured materials show promise in overcoming some of the limitations of current medical bioimaging techniques, such as the harmful effects of ionizing radiation used in X-ray and CT scans, the radioactivity-related risks in radioscopic methods, and the low resolution in certain imaging approaches.

Specific Aims: This project applies nanotechnology to develop multimodal nanotools for early tumor diagnosis. Recent advances highlight supramolecular structures (such as. fibers, hydrogels, nanospheres) from biocompatible polymers as promising supramolecular contrast agents (CAs). These materials offer high biocompatibility and simple, low-cost synthesis, with accessible functionalization. Peptides, key in forming nanostructured aggregates, can be modified (e.g., non-coded amino acids, drug/fluorophore conjugation) to expand functionality. Nano-sized liposomes with enhanced relaxation will also be explored. Furthermore, novel CEST agents, including pH-responsive systems and $^{31}\text{P}/^{19}\text{F}$ -based approaches, will be investigated. The project includes three tasks:

1. Peptide-based nanostructures for bioimaging (PL):

Amyloid-like peptide nanostructures exhibit blue-green photoluminescence (PL), but near-infrared (NIR) PL is preferred for in vivo use. This task involves designing, synthesizing, and characterizing peptides that self-assemble into fibrillary networks with enhanced NIR optical properties, also suitable for optoelectronic integration.

2. Novel Gd(III)-based CAs for MRI:

Supramolecular systems will be made from self-assembling peptides or conjugates using: (i) Gd(III) complex encapsulation, (ii) covalent binding to inorganic surfaces, or (iii) Gd(III) linked to hydrophobic segments to trigger self-assembly. Strategies enhancing relaxivity include modulating rotational motion and reversible binding, while maintaining optimal water exchange. Additionally, interactions between conventional low-molecular-weight Gd(III)-CAs and biomolecules will be examined to form supramolecular adducts with improved relaxivity and altered biodistribution. MRI's resolution enables detection of such variations possibly linked to pathology.

3. Gd(III)-free MRI CAs:

To improve biocompatibility, endogenous metals like Mn(II) or Fe(III) will replace Gd(III). Novel CEST agents will be explored. Their structural, physical, and relaxometric properties will be optimized for MRI performance, focusing on relaxivity, stability, and biodistribution. Preclinical studies will assess safety, toxicity, and imaging efficacy. Interactions with biological systems will be studied to understand coordination chemistry and dynamics behind signal enhancement. Special focus will be given to paramagnetic complexes' influence on endogenous CEST, offering insight into membrane transport, permeability, and metabolism. This hybrid approach may uncover links to transporter expression and regulation.

Expected outcomes: This project aims to advance the development of innovative diagnostic agents for a range of bioimaging applications, specifically focusing on FI, Contrast Enhanced-MRI, and CEST-MRI. The primary objective is to create diagnostic agents that not only improve the quality of imaging but also enhance the in vivo safety profile of the agents.

FI: The project will explore the design and synthesis of new fluorescent probes capable of offering superior imaging resolution and specificity. By fine-tuning the fluorescence emission properties, we aim to enhance the contrast between biological tissues and the surrounding background, facilitating more precise and accurate diagnostic imaging.

MRI: We will focus on developing novel MRI CAs that improve spatial and temporal resolution. This will be achieved by optimizing the agents' relaxivity properties to enhance both T1 and T2 weighted imaging. Additionally, we aim to explore the use of endogenous metal ions, such as Mn(II) or Fe(III), as alternatives to traditional Gd(III) ions to reduce potential toxicity and enhance biocompatibility, addressing the need for safer MRI contrast agents. Finally, novel architectures for the chelation of the paramagnetic Gd ions will also be considered.

CEST-MRI: The project will also target the development of novel CEST-MRI contrast agents that can provide advanced imaging capabilities. By designing agents capable of interacting with exchangeable protons in biological systems, we aim to improve sensitivity and specificity for detecting early-stage pathologies. Additionally, the development of agents that exhibit enhanced chemical exchange dynamics could significantly improve the resolution and diagnostic accuracy of CEST-MRI. Much attention will be devoted to the platform of the so-called GadoCEST method in relation to its integration with the well-established CEST-MRI approach.

The key goals of this project are to address two critical challenges in the field of bioimaging: 1) enhancing the quality of

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

diagnostic images by improving the contrast and resolution, and 2) improving the in vivo safety profile of the diagnostic agents. Through this approach, the project aims to provide safer, more effective imaging tools for early disease detection, ultimately contributing to the advancement of personalized medicine.

Significance and Innovation: The integration of nanotechnology into biomedical research and clinical practices has led to the emergence of nanomedicine, a field that holds significant promise for advancing human health. Nanomaterials are increasingly being utilized in a variety of applications, including diagnostics, imaging, and targeted drug delivery. Nanotechnology is poised to play a crucial role in the development of personalized medicine, where treatments are customized based on an individual's genetic makeup and disease characteristics. By harnessing the potential of nanotechnology, it will be possible to implement therapeutic strategies that are challenging to achieve with traditional technologies. This rapidly advancing and expanding field has garnered significant attention from both the public and the media across the globe.

Translational relevance: The development of advanced biomaterials can greatly enhance diagnostic efficiency. Supramolecular diagnostic agents are especially promising, as they allow for reduced gadolinium (Gd) doses, improving safety and addressing concerns over Gd-related risks. Incorporating clinically approved contrast agents (CAs) into supramolecular adducts offers further advantages, potentially lowering both development time and costs. This strategy leverages existing safety profiles, streamlining the path from research to clinical use. Overall, it supports faster implementation of safer, more effective diagnostic tools in healthcare.

4 : Strategie di Network Medicine e scienze omiche per lo studio di malattie multifattoriali

Responsabile: PANE KATIA

Programma:

Parole chiave: biomarker discovery, pathway analysis, molecular signatures, omics, disease module, interaction networks, bioinformatics, ncRNAs, machine learning

Altri enti coinvolti: Università degli Studi di Napoli 'Federico II'
Fondazione Monasterio
IRCCS Multimedica
Uni Enna Kore

Anno inizio: 2025

Durata: 36

Tipologia: Metodologica

Area di interesse: Diagnostica

Project Classification IRG: Genes, Genomes and Genetics

Project Classification SS: Genomics, Computational Biology and Technology - GCAT

Descrizione: Le scienze omiche stanno rivoluzionando la medicina di precisione grazie a tecniche avanzate nei diversi ambiti biologici (genomica, epigenomica, trascrittomica, proteomica, metabolomica). Accanto a queste, la Network Medicine rappresenta un approccio innovativo per studiare le patologie multifattoriali, basato sulla teoria delle reti e sull'integrazione tra biologia dei sistemi e scienze computazionali. Secondo questo paradigma, i fenotipi patologici sono il risultato di interazioni complesse tra geni-malattia organizzati in 'moduli-malattia' all'interno di reti molecolari, come le reti proteina-proteina o ibride. L'integrazione tra scienze omiche e network medicine consente di esplorare la complessità biologica e definire nuove classificazioni patologiche. I recenti progressi del sequenziamento hanno rivelato il ruolo emergente degli RNA non codificanti (ncRNA), inclusi miRNA, lncRNA, circRNA, piRNA e snoRNA, nella regolazione genica e nelle malattie complesse. La loro identificazione richiede pipeline computazionali avanzate e l'uso di algoritmi di machine learning. Questo progetto applica approcci omici e computazionali per migliorare la classificazione delle malattie complesse e identificare nuovi biomarcatori, valutando anche le reti biologiche alterate da molecole regolative emergenti con l'obiettivo di sviluppare percorsi sempre più personalizzati.

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

- Risultati e prodotti conseguiti:** Il progetto propone la definizione e lo sviluppo di approcci computazionali per l'analisi e l'integrazione delle scienze omiche e la network medicine al fine di migliorare l'accuratezza diagnostica e guidare la medicina di precisione.
- Nello specifico:
- applicare tecniche omiche per lo studio di patologie oncologiche, cardiovascolari e neurodegenerative al fine di identificare potenziali nuovi biomarcatori diagnostici e prognostici; (medio termine)
 - identificare meccanismi patogenetici comuni attraverso lo studio dell'interattoma umano, identificando relazioni e collegamenti critici tra geni, proteine e specifiche malattie tramite l'analisi funzionale dei pathways; (medio termine)
 - integrare approcci di statistica avanzata, la scienze delle reti, ed algoritmi di apprendimento automatico per comprendere le perturbazioni genetiche o ambientali di più classi di molecole, per es. sequenze di RNA non codificanti che sottendono al fenotipo patologico; (lungo termine)
 - valutare potenziali reti di interazione farmaco-target. (lungo termine)
- Attività previste:** Applicare tecnologie omiche (trascrittomica, genomica, epigenomica, metabolomica) allo studio di patologie oncologiche, cardiovascolari e neurodegenerative, al fine di identificare nuovi biomarcatori diagnostici e prognostici tramite modelli predittivi e classificatori molecolari.
- Analizzare l'interattoma umano mappando le interazioni funzionali tra geni, proteine e malattie attraverso analisi integrative di pathway, reti geniche e moduli co-espressi.
 - Integrare metodi di statistica multivariata, scienza delle reti biologiche e algoritmi di machine learning (supervisionato e non supervisionato) per decifrare le perturbazioni molecolari - inclusi RNA non codificanti, varianti genetiche rare e segnali epigenetici - alla base di specifici fenotipi patologici.
 - Mappare reti di interazione farmaco-target sfruttando modelli computazionali e tecniche di drug repurposing, con l'obiettivo di identificare potenziali target per strategie terapeutiche personalizzate.
- Background:** Omics sciences are revolutionizing precision medicine by enabling comprehensive analysis across various biological layers, including genomics, transcriptomics, epigenomics, proteomics, and metabolomics. Concomitantly, Network Medicine discipline has emerged as a powerful paradigm to study multifactorial diseases by applying network theory to biological data. According to the network medicine, complex diseases result from alterations in molecular interaction networks, where disease-specific modules arise from perturbations across multiple interconnected genes and pathways. Thus, Network Medicine facilitates the understanding of shared mechanisms among seemingly distinct pathological phenotypes. High-throughput sequencing technologies have revealed an expanding universe of ncRNAs-including miRNAs, lncRNAs, circRNAs, piRNAs, and snoRNAs-which play essential regulatory roles in gene expression. Their functional characterization remains challenging. This project addresses the need to identify hybrid molecular networks that include diverse molecular classes, such as non-coding RNAs (ncRNAs) and their targets and/or protein-protein interaction networks (PPI networks) by applying integrated multi-omic approaches, ad hoc bioinformatic pipelines, and machine learning algorithms.
- Hypothesis and Significance:** Omics data integration through network-based frameworks paves the way for a systems medicine model, enhancing our ability to decode individual molecular profiles. This contributes to more accurate diagnosis, personalized treatment strategies, and improved prognosis. Particularly, the study of ncRNA-mediated regulatory networks holds great promise for the development of novel diagnostic and therapeutic tools in precision medicine.
- Specific Aims:**
- Apply omics technologies (transcriptomics, genomics, epigenomics, proteomics, metabolomics) for molecular profiling of oncological, cardiovascular, and neurodegenerative diseases and identify novel diagnostic and prognostic biomarkers using predictive models and molecular classifiers.
 - Investigate the human interactome by mapping functional interactions among genes, proteins, and diseases through integrative analyses of pathways, gene networks, and co-expression modules.
 - Integrate multivariate statistical methods, biological network science, and machine learning algorithms (both supervised and unsupervised) to decode molecular perturbations-including non-coding RNAs, rare variants, and epigenetic signals-underlying specific pathological phenotypes.
 - Construct drug-target interaction networks using computational models and drug repurposing strategies to identify novel targets and enable personalized treatment interventions.

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

Expected outcomes: Application of omics approaches to improve the classification of multifactorial diseases; identification of novel diagnostic and prognostic biomarkers; application of network medicine strategies to investigate non-coding RNAs roles, the biological networks they control, and their alterations in pathological contexts; prioritization of genetic variants and epigenetic signals contributing to pathological phenotypes; identification of drug-target network, enabling more personalized pharmacological interventions.

Significance and Innovation: The complexity of multifactorial diseases such as cancer, cardiovascular disorders, and neurodegenerative conditions arises from intricate interactions between genetic, epigenetic, transcriptomic, metabolic, and environmental factors. This project addresses critical knowledge gaps by leveraging integrated multi-omics and network theory approaches to decode the molecular architecture underlying these diseases. By identifying novel diagnostic and prognostic biomarkers, mapping disease-specific molecular networks and, drug-target networks, the project supports the advancement of precision medicine.

Translational relevance: Multifactorial diseases such as cardiovascular disorders, cancer, and neurodegenerative conditions represent a major burden for global healthcare systems. The project pioneers multi-layered omics integration through an innovative discipline based on network theory. The project's outcomes are expected to directly contribute to the development of precision medicine frameworks, because inform early and accurate diagnosis through novel biomarkers, support patient stratification through cost-effective therapeutic interventions, and accelerate the clinical translation of multi-omic and computational findings into real-world healthcare settings.

5 : Strumenti di supporto alla medicina di precisione, alla ricerca traslazionale e alla pratica clinica

Responsabile: Zanfardino Mario

Programma:

Parole chiave: Medicina di precisione, Intelligenza artificiale, Radiogenomica, Biomarcatori, Medicina partecipata

Altri enti coinvolti: Università degli studi di Napoli - Federico II
Consiglio Nazionale Delle Ricerche (CNR)
Teesside University (UK)

Anno inizio: 2025

Durata: 36

Tipologia: Metodologica

Area di interesse: Diagnostica

Project Classification IRG: Healthcare Delivery and Methodologies

Project Classification SS: Biomedical Computing and Health Informatics - BCHI

Descrizione: Le moderne metodologie computazionali applicate ai dati omici stanno trasformando la ricerca medica e biologica, con un impatto significativo sulla pratica clinica e sulla ricerca traslazionale. L'aumento della disponibilità di dati di alta qualità, ottenuti da tecnologie high-throughput, sequenziamenti e imaging avanzato, ha favorito lo sviluppo di strumenti innovativi per diagnosi, prognosi e trattamento di patologie complesse. In questo ambito, machine learning e intelligenza artificiale supportano l'identificazione di biomarcatori, la stratificazione del rischio e la personalizzazione delle cure. L'integrazione di dati clinici, diagnostici, omici e sanitari, strutturati e non, tramite approcci analitici avanzati, consente di evidenziare connessioni biologiche nascoste, migliorando l'accuratezza diagnostica e prognostica. Radiomica e radiogenomica offrono strumenti non invasivi per caratterizzare i fenotipi patologici, favorendo diagnosi precoce e previsione dell'efficacia terapeutica, con applicazioni in ambito cardiovascolare, oncologico e neurodegenerativo. Il progetto mira a sviluppare metodi per la raccolta, integrazione, gestione, visualizzazione e analisi dei dati a supporto della medicina di precisione, oltre a definire nuovi workflow basati su tecniche di apprendimento automatico per la ricerca traslazionale e la pratica clinica.

Risultati e prodotti conseguiti: 1. Definizione di workflow computazionali avanzati per la gestione integrata di dati clinici, omici, radiomici e genomici, finalizzati all'ottimizzazione dell'identificazione di biomarcatori diagnostici e prognostici.

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

2. Sviluppo e validazione di modelli predittivi basati su machine learning, in grado di stratificare il rischio e personalizzare i trattamenti in pazienti affetti da patologie oncologiche, cardiovascolari e neurodegenerative.
3. Standardizzazione dei dati radiomici e radiogenomici attraverso l'implementazione di tecniche di normalizzazione e la rimozione del batch effect, migliorando la riproducibilità e l'affidabilità delle analisi.
4. Realizzazione di strumenti di supporto decisionale clinico (CDSS) basati su interfacce grafiche intuitive e tecniche di analisi avanzata, per agevolare l'utilizzo dei dati multimodali nella pratica clinica.
5. Identificazione e validazione di firme omiche ad alto potere predittivo, mediante l'applicazione di tecniche statistiche di riduzione della dimensionalità.
6. Integrazione efficace di dati eterogenei (clinici, genomici e radiomici) per la creazione di modelli avanzati di medicina personalizzata, volti a migliorare la diagnosi, il monitoraggio e l'efficacia terapeutica.
7. Scoperta di nuovi biomarcatori non invasivi mediante l'integrazione di tecnologie omiche e imaging, con potenziale applicazione nella diagnosi precoce e nella prognosi di malattie complesse.
8. Elaborazione di score predittivi clinicamente rilevanti per l'identificazione dei pazienti più idonei a specifici trattamenti o trial clinici, favorendo un approccio terapeutico personalizzato.
9. Sviluppo di pipeline computazionali automatizzate basate su intelligenza artificiale, applicabili sia a dataset pubblici che proprietari, a supporto dell'analisi ad alta scala.
10. Miglioramento della diagnosi precoce e delle strategie terapeutiche attraverso l'applicazione della radiogenomica, favorendo la comprensione delle correlazioni tra fenotipo patologico e caratteristiche molecolari.

Attività previste- Sviluppo di workflow avanzati per la gestione e l'analisi di dati eterogenei e multimodali, utili all'identificazione di biomarcatori diagnostici e prognostici e alla caratterizzazione di fattori di rischio.

- Costruzione di modelli predittivi basati su machine learning per la stratificazione del rischio e la personalizzazione dei trattamenti in ambito oncologico, cardiovascolare e neurodegenerativo.
- Implementazione di tecniche di normalizzazione e rimozione di batch effect nei dati radiomici e radiogenomici
- Sviluppo di strumenti di supporto alla decisione clinica attraverso l'analisi avanzata di dati eterogenei ed anche attraverso lo sviluppo di strumenti ad interfaccia grafica,
- Valutazione dell'impatto di tecniche statistiche di riduzione della dimensionalità per la caratterizzazione di firme omiche con potere predittivo.
- Integrazione di dati clinici, genomici e radiomici per lo sviluppo di modelli avanzati di medicina personalizzata.
- Identificazione di nuovi biomarcatori diagnostici e prognostici non invasivi attraverso la combinazione di tecnologie omiche e imaging.
- Creazione di score predittivi per la stratificazione del rischio e l'individuazione di pazienti candidati a specifici trattamenti.
- Sviluppo di pipeline computazionali basate su tecniche di intelligenza artificiale per analisi su dataset pubblici e proprietari.
- Applicazione della radiogenomica per l'analisi delle correlazioni tra fenotipi patologici e caratteristiche molecolari, con l'obiettivo di migliorare la diagnosi precoce e le strategie terapeutiche.

Background: Modern computational methodologies applied to various types of omics data are transforming biomedical and clinical research, with a significant impact on translational science and healthcare practice. The increasing availability of high-quality data, derived from high-throughput technologies, sequencing, and advanced imaging, has enabled the development of innovative tools for diagnosing, prognosing, and treating complex diseases. In this context, machine learning and artificial intelligence play a crucial role in identifying biomarkers, stratifying risk, and tailoring treatment plans. By integrating clinical, diagnostic, omics, and other structured and unstructured health data through advanced analytical approaches, it becomes possible to uncover hidden biological patterns and improve diagnostic and prognostic accuracy. Based on these premises, the project aims to develop and apply advanced methods for collecting, integrating, managing, visualizing, and analyzing data to support precision medicine. Additionally, it seeks to define and implement innovative data analysis tools, including machine learning-based techniques, to establish new methodological workflows that can support both translational research and clinical decision-making.

Hypothesis and Significance: We hypothesize that the integration of heterogeneous and multimodal biomedical data ranging from clinical records to omics profiles through cutting-edge computational methods will enable the identification of robust diagnostic and prognostic biomarkers, as well as the development of predictive models for disease evaluation. By leveraging artificial intelligence and machine learning techniques, it is possible to extract meaningful patterns from complex datasets, leading to more accurate diagnosis or risk stratification. The significance of this project lies in its potential to bridge the gap between data generation and clinical application, offering tools for translational research and improving clinical decision-making. The proposed approaches are expected to

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

contribute substantially to the evolution of precision medicine, particularly in the areas of oncology, cardiology, and neurodegenerative diseases, by providing non-invasive, data-driven insights that support earlier diagnoses.

Specific Aims:

- To design and validate data analysis workflows for the integration and interpretation of heterogeneous and multimodal biomedical data, including clinical, omics, and imaging sources.
- To build predictive models using machine learning techniques for diagnosis, evaluation and biomarker discovery in oncology, cardiology, and neurodegenerative disorders.
- To implement normalization techniques and batch effect correction methods in radiogenomic data to improve data quality and reproducibility.
- To develop clinical decision support systems (CDSS) with user-friendly graphical interfaces for the visualization and exploration of integrated biomedical data.
- To assess the utility of dimensionality reduction techniques in identifying omics-based signatures with high predictive power.

Expected outcomes: The project is expected to generate tools that will facilitate the identification of novel, non-invasive diagnostic and prognostic biomarkers, the development of predictive models for patient stratification, and the implementation of decision support systems for clinical use. In the long term, the integration of omics and clinical data will enable more accurate and personalized therapeutic strategies, contributing to improved patient outcomes.

Significance and Innovation: This project addresses a critical need in modern medicine: the ability to harness complex, high-dimensional biomedical data to inform personalized care. Its significance lies in bridging the gap between data-rich research environments and practical clinical applications, enabling more precise diagnostics and prognostics. By integrating clinical and omics data the project enhances our capacity to uncover biologically meaningful patterns that would remain hidden with traditional approaches. The innovation stems from the combination of cutting-edge machine learning techniques, novel data integration workflows, and the development of user-oriented clinical decision support systems.

Translational relevance: Project impact on the SSN lies in enabling earlier diagnoses and improved resource allocation through predictive models and non-invasive biomarkers. By integrating AI-driven analytics into routine workflows, the project supports a more efficient, equitable, and precision-oriented healthcare system.

6 : Ruolo del microbiota ed interazioni ospite-patogeno alla base delle malattie umane

Responsabile: PANE KATIA

Programma:

Parole chiave: metagenomics, metabolomics, biofluid microbiome, systems-level approaches, gut microbiota-brain axis, host-immune system, functional food, nutrigenomics

Altri enti coinvolti:

- Università di Napoli Federico II
- Università di Perugia e A.O. Santa Maria di Terni
- Università della Campania "Vanvitelli"

Anno inizio: 2025

Durata: 36

Tipologia: Metodologica

Area di interesse: Diagnostica

Project Classification IRG: Infectious Diseases and Microbiology

Project Classification SS: Host Interactions with Bacterial Pathogens - HIBP

Descrizione: Il microbiota umano, in particolare quello intestinale, svolge un ruolo cruciale nella salute e in molte patologie croniche. L'interazione lungo l'asse microbiota-intestino-cervello è implicata in disordini neurologici, metabolici e cardiovascolari. La disbiosi può innescare infiammazione sistemica e alterazioni immunitarie. Dieta e stile di vita influenzano profondamente questa interazione. L'integrazione di tecniche NGS quali la metagenomica, la metabolomica e la nutrigenomica consente di

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

indagare l'impatto dei nutrienti sulla composizione microbica e sull'espressione genica, supportando la definizione di marcatori precoci di rischio. Le vescicole extracellulari (EVs), isolate da biofluidi come il latte, contengono RNA, proteine e lipidi bioattivi e rappresentano una nuova frontiera nello studio dei biomarcatori funzionali, grazie alla loro capacità di modulare il microbiota e la risposta immunitaria. Il progetto propone l'analisi integrata di dati omici e modelli preclinici per identificare marcatori diagnostici e prognostici non invasivi in ambito oncologico, neurologico e cardiovascolare. In particolare, l'esplorazione del microbiota urinario e delle EVs circolanti potrebbe facilitare la diagnosi precoce di tumori solidi e la caratterizzazione del profilo di risposta individuale. L'approccio multidisciplinare permetterà di sviluppare modelli predittivi avanzati a supporto della medicina di precisione.

Risultati e prodotti conseguiti: - Valutazione dell'efficacia della palmitoilglucosamina (PGA) nel modulare l'infiammazione sistemica e nel favorire il ripristino dell'equilibrio del microbiota intestinale in un modello murino di disbiosi indotta da antibiotici.

- Dimostrazione del ruolo terapeutico del microbiota intestinale nel controllo delle vie di segnalazione del dolore, con particolare riferimento alla regolazione dell'asse intestino-cervello.

- Approfondimento dei meccanismi molecolari e neuroinfiammatori alla base dell'interazione tra microbiota e sistema nervoso centrale, con implicazioni nella gestione di condizioni croniche legate a disfunzione neurointestinale.

- Acquisizione di evidenze precliniche a supporto dell'uso della PGA come potenziale agente coadiuvante in terapie per la regolazione dell'infiammazione e del dolore, mediata dal microbiota.

Attività previste - Caratterizzazione della diversità microbica in distretti corporei specifici e come le alterazioni del microbiota e/o delle componenti immunitarie innata ed adattativa, possono influire sulla patologia, sull'infiammazione, sulla risposta alla terapia e/o a recidiva al fine di identificare pattern molecolari in relazione al microbiota e all'immunità dell'ospite, con implicazioni in termini di diagnosi, trattamento e prognosi. Per raggiungere tale obiettivo, diversi campioni biologici potranno essere oggetto di studio per identificare nuovi biomarcatori associati al microbiota intestinale o da altro sito-specifico, alla componente immunitaria dell'ospite (per esempio i peptidi antimicrobici anche noti come peptidi di difesa dell'ospite), infiammatoria (citochine, chemochine), e/o metabolica

- Caratterizzare il profilo metagenomico di una malattia a partire da banche dati o da studi del microbioma in campioni clinici o preclinici integrando la metagenomica con dati di trascrittomica e metabolomica finalizzati alla medicina di precisione attraverso lo sviluppo di metodi computazionali, basati su pipeline bioinformatiche e tecniche di apprendimento automatico

- Caratterizzare le vescicole extracellulari (EVs) da campioni biologici, in particolare da biofluidi come il latte per valutarne il contenuto molecolare (RNA, miRNA, proteine, lipidi) e la capacità di mediare interazioni tra microbiota e ospite. L'obiettivo è identificare il potenziale ruolo delle EVs come biomarcatori funzionali e/o come vettori naturali di segnali immunomodulatori e metabolici, con ricadute nella diagnosi precoce, nel monitoraggio terapeutico e nello sviluppo di approcci nutraceutici e personalizzati.

Background: Host-microbiota interactions, via the innate and adaptive immune systems, are increasingly recognized as key contributors to systemic inflammation, metabolic dysfunctions (e.g., cardiovascular diseases, diabetes), and neurocognitive disorders in states of dysbiosis.

Environmental factors, including diet and lifestyle, modulate microbiota composition and function, influencing gene expression and individual disease susceptibility. Nutrigenomics explores the gene-diet interaction, and, when integrated with metagenomics and metabolomics, offers powerful tools for precision medicine.

Recent evidence indicates that extracellular vesicles (EVs) derived from natural biofluids, particularly milk, represent a new class of bioactive and nutraceutical compounds that can modulate the gut microbiota, influence the host immune response, and act along the microbiota-gut-brain axis. EVs contain biologically active cargo (RNA, miRNA, protein, lipid) that can be taken up by intestinal cells and transported systemically. Preclinical studies show that dairy EVs have anti-inflammatory, immunomodulatory, neuroprotective, and antitumor properties.

High-throughput sequencing and microbial metabolite profiling require robust bioinformatics and AI-driven tools to harness their diagnostic and therapeutic potential fully. Emerging evidence links specific microbial taxa with tumor progression and treatment outcomes, highlighting their impact on host response to chemotherapy and immunotherapy.

Hypothesis and Significance: It is well established that alterations in site-specific microbiota composition, in concert with host immune system dysregulation, contribute to the onset and progression of metabolic, neurocognitive, cardiovascular, and oncological diseases. These changes can be modulated by dietary and environmental factors, and their

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

molecular signatures when decoded through integrated multi-omic approaches can be exploited for early, non-invasive diagnosis, personalized nutrition, and targeted therapies. The project addresses the need to elucidate the complex host-microbiota-immune interactions through metagenomic, metabolomic, and nutrigenomic data integration providing disease-specific microbial and host-derived biomarkers.

Specific Aims:

- Characterize microbial diversity across selected body sites and assess how microbiota and immune alterations influence disease progression, inflammation, therapeutic outcomes, and recurrence.
- Identify molecular signatures associated with host-microbiota interactions, focusing on site-specific microbial biomarkers and immune factors such as antimicrobial peptides, cytokines, chemokines, and metabolites.
- Perform metagenomic profiling of clinical or preclinical samples, supported by public databases and original microbiome data.
- To characterize extracellular vesicles (EVs) from biological samples, particularly from biofluids such as milk to assess their molecular content (RNA, miRNA, protein, lipid) and ability to mediate microbiota-host interactions. The goal is to identify the potential role of EVs as functional biomarkers and/or as natural vectors of immunomodulatory and metabolic signals, with implications for early diagnosis, therapeutic monitoring, and the development of nutraceutical and personalized approaches.
- Integrate multi-omic datasets (metagenomics, transcriptomics, metabolomics) using computational methods to enhance understanding of disease mechanisms.

Expected outcomes: This project aims to integrate metagenomic, metabolomic, and nutrigenomic data with immune profiling to uncover molecular targets, bioactive compounds, and early biomarkers, for disease prevention, diagnosis, and therapy strategies.

Significance and Innovation: Identification and development of non-invasive diagnostics, risk stratification tools, and nutritional or pharmacological interventions will be achieved by advanced bioinformatics and data integration techniques providing an innovative framework of analysis.

Translational relevance: Functional foods and bioactive compounds can modulate gene expression and immune responses via the gut microbiota, providing a basis for precision nutrition and primary prevention. Implementation of personalized and predictive strategies can reduce healthcare costs, thereby improving resource efficiency.

7 : Tecniche di Data science per l'epidemiologia delle malattie croniche non trasmissibili ad elevato impatto sociale

Responsabile: Franzese Monica

Programma:

Parole chiave: Malattie croniche non trasmissibili, fattori di rischio, metodi statistici, machine learning, segni e sintomi, medicina partecipata

Altri enti coinvolti: Università degli Studi di Napoli "Federico II"
Teesside University (UK)

Anno inizio: 2025

Durata: 36

Tipologia: Metodologica

Area di interesse: Diagnostica

Project Classification IRG: Healthcare Delivery and Methodologies

Project Classification SS: Biostatistical Methods and Research Design - BMRD

Descrizione: Le malattie croniche non trasmissibili (MCNT) - incluse patologie cardiovascolari, diabete, cancro e malattie respiratorie, rappresentano la principale causa di morte a livello globale, con impatto crescente anche nelle fasce giovanili. La loro eziologia multifattoriale, legata a fattori di rischio modificabili (come alimentazione, sedentarietà, fumo, alcol, stress), determina condizioni intermedie quali ipertensione, obesità e dislipidemia, che aumentano il rischio di eventi clinici gravi. La crescente disponibilità di dati clinici, molecolari e diagnostici consente oggi, attraverso la data science, di elaborare modelli predittivi avanzati. In tale contesto, il progetto si inserisce nel paradigma della medicina delle 4P Predittiva, Preventiva, Personalizzata e Partecipativa, con l'obiettivo di promuovere interventi tempestivi e su misura, migliorando l'outcome clinico e la sostenibilità del sistema sanitario. Vengono impiegati metodi computazionali basati su machine learning e intelligenza artificiale per l'integrazione di dati

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

complessi, la stratificazione del rischio e lo sviluppo di strumenti decisionali a supporto della medicina di precisione. Inoltre, le vescicole extracellulari (EVs) di origine animale, vegetale o microbica rappresentano una promettente risorsa di biomarcatori funzionali e vettori nutraceutici, potenzialmente utili nella modulazione personalizzata del rischio cronico.

Risultati e prodotti conseguiti: - Definizione di framework statistico-metodologici per
- Sviluppo di modelli predittivi affidabili per la progressione delle malattie croniche
- Identificazione di nuovi biomarcatori clinicamente rilevanti
- Sviluppo di strumenti computazionali a supporto del processo decisionale medico
- Evidenze a sostegno di strategie più efficaci di prevenzione, favorendo una medicina personalizzata e partecipata

Attività previste: - Integrazione di dati epidemiologici, clinici e diagnostici mediante framework computazionali multivariati, per migliorare l'accuratezza delle analisi e la definizione di modelli predittivi.
- Identificazione di biomarcatori innovativi che incorporano il profilo molecolare delle EVs nutraceutiche in relazione a fenotipi clinici specifici.
- Definizione di nuovi indicatori di rischio e risposta terapeutica, a partire dall'analisi integrata di dati sanitari e dall'implementazione di strumenti basati sull'intelligenza artificiale.
- Sviluppo di pipeline di elaborazione avanzate per l'estrazione di descrittori numerici da dati diagnostici e la valutazione del loro impatto traslazionale nella pratica clinica.
- Applicazione di tecniche di machine learning per la caratterizzazione di fattori di rischio emergenti e la previsione della progressione delle malattie croniche.

Background: Non-communicable chronic diseases (NCDs), including cardiovascular diseases, diabetes, cancer, and chronic respiratory conditions, are the leading global cause of death, accounting for about 74% of total mortality. Their prevalence has grown rapidly in recent decades, increasingly affecting younger individuals. NCDs stem from both non-modifiable risk factors (such as age and genetics) and modifiable lifestyle behaviors like poor nutrition, lack of exercise, smoking, alcohol consumption, and stress. These risk factors contribute to intermediate conditions, e.g., hypertension, dyslipidemia, and obesity, that raise the likelihood of serious events such as heart attacks and strokes. In this context, the growing availability of clinical, omics, and diagnostic data from electronic health records, digital platforms, and multicenter studies creates unprecedented opportunities for predictive and personalized approaches to disease management in the direction of 4P medicine. Through data science, including machine learning and deep learning, it is now possible to uncover latent data patterns, develop robust risk prediction models, and support early diagnosis and preventive strategies. Additionally, extracellular vesicles (EVs) from animal, plant, and microbial sources have emerged as promising biomarkers, capable of carrying miRNAs, proteins, and metabolites. Isolated from foods like milk and vegetables, EVs offer innovative perspectives for chronic risk monitoring and modulation.

Hypothesis and Significance: The central hypothesis is that the integration of clinical, diagnostic, and epidemiological data through advanced computational methods (e.g., machine learning and deep learning) can:
- Identify hidden diagnostic patterns.
- Enable the construction of personalized risk models.
- Detect novel predictive biomarkers and indicators of treatment response.

Such an approach can revolutionize the management of NCDs, allowing earlier, more targeted, and effective intervention strategies.

Specific Aims: - Integrate epidemiological, clinical, and diagnostic data using multivariate computational frameworks to improve the accuracy of predictive models.
- Identify of novel biomarkers incorporating the molecular profile of nutraceutical EVs in relation to specific clinical phenotype
- Define novel risk indicators and treatment response markers by leveraging AI-based tools and comprehensive health data.
- Apply machine learning techniques to identify emerging risk factors and predict the progression of chronic diseases.
- Data collection with active involvement of patients and citizens (such as, questionnaires, wearables, etc.) for building digital decision-making tools, thereby reinforcing the participatory dimension of 4P medicine.

Expected outcomes: - Reliable predictive models for chronic disease progression;
- Identification of novel, clinically relevant biomarkers;
- Development of computational tools to support medical decision-making;

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

- Evidence to promote more effective prevention and personalized and participatory medicine strategies.

Significance and Innovation: The project combines data science, translational medicine, and epidemiology, addressing a major global health challenge. It aims to overcome the limitations of traditional methods by introducing AI-driven and personalized approaches, adopting the 4P medicine paradigm. The use of predictive models based on multidimensional data will enhance disease monitoring and risk assessment, providing innovative tools for early intervention. The project also contributes to the growing field of precision public health, offering scalable tools for improved prevention and care.

Translational relevance: This integrated, multidisciplinary study, aligned with the principles of 4P medicine (predictive, preventive, personalized, and participatory) could significantly improve patient outcomes and public health policy planning by:

- supporting personalized prevention of NCDs by identifying individual risk profiles;
- evaluating the efficiency and accuracy of clinical pathways, helping to optimize resource allocation;
- providing decision support tools for clinicians, enabling data-driven and evidence-based care.

8 : Aggregazione proteica e amiloidogenesi: mutazioni, malattie e nuove frontiere teranostiche

Responsabile: FLORIO DANIELE

Programma:

Parole chiave: Proteine intrinsecamente disordinate, aggregazione amiloide, complessi metallici, peptidi, malattie neurodegenerative, mutazioni genetiche, biomarcatori teranostici.

Altri enti coinvolti: Università degli Studi di Napoli "Federico II"
Istituto Italiano di Tecnologia
IBB-CNR

Anno inizio: 2025

Durata: 36

Tipologia: Metodologica

Area di interesse: Diagnostica

Project Classification IRG: Biological Chemistry and Macromolecular Biophysics

Project Classification SS: Macromolecular Structure and Function A - MSFA

Descrizione: Negli ultimi anni, le proteine intrinsecamente disordinate (IDPs) hanno ridefinito il paradigma struttura-funzione, dimostrando come la flessibilità conformazionale permetta interazioni versatili ma favorisca anche l'aggregazione aberrante, alla base di numerose patologie. Il progetto si propone di studiare il ruolo delle IDPs nei processi di amiloidogenesi, con particolare attenzione alle malattie neurodegenerative e sistemiche. Mutazioni nei geni APP, PSEN1/2, SNCA e MAPT alterano la stabilità proteica e promuovono la formazione di specie tossiche, come oligomeri solubili e fibrille amiloidi, coinvolte in Alzheimer, Parkinson e taupatie. Un focus innovativo riguarda le mutazioni del gene NPM1 nella leucemia mieloide acuta (AML), in cui l'errata localizzazione citoplasmatica della proteina mutata (NPM1c+) è associata all'attivazione aberrante di geni HOX, favorendo la trasformazione leucemica. Studi precedenti hanno evidenziato una correlazione tra mutazioni AML e l'amiloidogenicità del dominio C-terminale della proteina. Il progetto si propone di approfondire questi aspetti attraverso analisi strutturali e funzionali, al fine di chiarire i meccanismi molecolari coinvolti. Obiettivo finale è l'identificazione di nuovi biomarcatori diagnostici e lo sviluppo di approcci teranostici basati sull'aggregazione proteica, con potenziali ricadute in termini di diagnosi precoce e terapie mirate.

Risultati e prodotti conseguiti: - Esplorare i meccanismi molecolari alla base dell'aggregazione proteica e del misfolding patologico in diverse patologie amiloidi.

- Analizzare le proprietà biofisiche e conformazionali delle proteine chiave coinvolte in malattie neurodegenerative e non, al fine di individuare determinanti molecolari chiave per il loro utilizzo come biomarcatori diagnostici e bersagli terapeutici.
- Caratterizzare le interazioni molecolari che regolano l'aggregazione proteica, utilizzando peptidi e frammenti peptidici amiloidogenici per comprendere in dettaglio i determinanti strutturali e funzionali dell'aggregazione.
- Esplorare strategie di modulazione dell'aggregazione amiloide attraverso l'uso di diversi agenti, tra cui complessi metallici

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

e small molecules organiche e naturali.

- Valutare l'impatto della modulazione dell'aggregazione amiloide non solo in ambito terapeutico, ma anche nella comprensione dei meccanismi molecolari e nelle applicazioni diagnostiche e biotecnologiche.

Attività previste Le attività previste possono essere schematizzate nei seguenti punti:

- Progettazione e sintesi di building blocks peptidici come modelli amiloidi:

La sintesi chimica di domini/prodotti proteici e piccoli peptidi, come molecole singole o in formato libreria, che verranno assemblati su resine solide seguendo le procedure standard della chimica Fmoc/tBu e analizzati tramite cromatografia liquida-spettrometria di massa (LC-MS) e purificati tramite cromatografia liquida ad alta prestazione in fase inversa (RP-HPLC).

- Progettazione e sintesi di complessi metallici e small molecules:

Verrà fatta particolare attenzione alla loro caratterizzazione e alle proprietà chimico-fisiche. La sintesi verrà effettuata mediante metodologie consolidate e innovative, garantendo un'accurata analisi dei prodotti ottenuti.

- Caratterizzazione biofisica e morfologica:

Per studiare la propensione all'aggregazione dei frammenti proteici, verranno eseguiti saggi di fluorescenza con Thioflavin T (ThT), nonché la fluorescenza intrinseca degli aminoacidi aromatici. Le concentrazioni critiche di aggregazione (CAC) saranno valutate utilizzando una sonda fluorescente 8-anilino-1-naftalensolfonico (ANS). Questi saggi di fluorescenza verranno utilizzati anche come saggi di screening primari. Le proprietà conformazionali saranno investigate tramite spettroscopia di dicromismo circolare e spettroscopie di risonanza magnetica nucleare (NMR). Le analisi di Diffusione Dinamica della Luce (DLS) permetteranno di valutare le dimensioni degli aggregati solubili, mentre microscopie come il Microscopio Elettronico a Scansione (SEM) forniranno informazioni sulle dimensioni e le morfologie degli aggregati/filamenti solidi ottenuti.

- Individuazione di biomarcatori basati sull'aggregazione proteica:

Screening di mutazioni e loro correlazione con specifici stati conformazionali.

- Ottimizzazioni su linee cellulari modello:

Verranno effettuate su linee cellulari modello di malattie amiloidi, come ad esempio le linee SHSY5Y per le malattie neurodegenerative e altre linee cellulari specifiche per patologie amiloidi non neurodegenerative, al fine di valutare gli effetti dei composti e dettagliare i meccanismi d'azione (MOA).

Background: Protein aggregation and misfolding play central roles in many diseases, including neurodegenerative disorders, systemic amyloidosis and cancers. Unlike the classical structure-function model, many disease-related proteins are intrinsically disordered proteins (IDPs) or contain intrinsically disordered regions (IDRs), lacking stable conformations under physiological conditions, which increases their propensity to aggregate. Misfolded proteins form soluble oligomers and insoluble fibrils enriched in β -sheet amyloid-like structures. These aggregates disrupt membrane integrity, mitochondrial function, proteostasis and immune responses. In neurodegenerative disorders like Alzheimer, Parkinson and tauopathies, mutations in APP, PSEN1/2, SNCA, and MAPT enhance aggregation of A β , α -synuclein and tau proteins. In Acute Myeloid Leukemia (AML), NPM1 mutations cause cytoplasmic mislocalization of NPM1c+, deregulating HOX genes and promoting leukemogenesis. Recent evidence indicates increased amyloidogenicity in NPM1c+as C-terminal domain, linking misfolding to leukemogenesis. While traditionally linked to toxicity, amyloid structures and so amyloid aggregation process may also have regulated physiological functions. Understanding the biophysical features of aggregation-prone proteins and disease-associated mutations can inform novel diagnostic and therapeutic approaches targeting protein aggregation.

Hypothesis and Significance: The hypothesis behind this project is that a deeper understanding of the molecular and structural determinants of protein aggregation may provide critical insights into its role in disease mechanisms and its potential for therapeutic applications. Although protein aggregation, particularly amyloid formation, is often considered deleterious, recent evidence indicates that the aggregation process can be exploited for clinical benefit. By targeting aggregation intermediates-often more toxic than mature fibrils-and discovering modulators such as small molecules, peptides, and metal complexes that regulate their formation, this project aims to challenge existing paradigms. It seeks to exploit protein aggregation pathways to create innovative theranostic approaches that integrate precise diagnosis with targeted intervention.

Specific Aims: The project is structured into the following tasks:

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

- To explore the molecular mechanisms underlying protein aggregation and pathological misfolding in various amyloid-related diseases.
- To analyze the biophysical and conformational properties of key proteins involved in neurodegenerative and non-neurodegenerative diseases, to identify key molecular determinants for their potential use as diagnostic biomarkers and therapeutic targets.
- To characterize the molecular interactions that regulate protein aggregation, using amyloidogenic peptides and peptide fragments to gain detailed insights into the structural and functional determinants of aggregation.
- To explore strategies for modulating amyloid aggregation using various agents, including metal complexes and small molecules, both organic and natural.
- To evaluate the impact of amyloid aggregation modulation, not only in therapeutic contexts, but also in understanding molecular mechanisms and in diagnostic and biotechnological applications.

Expected outcomes: This project aims to provide a comprehensive molecular understanding of the mechanisms underlying pathological protein misfolding and aggregation in both neurodegenerative and non-neurodegenerative amyloid-associated diseases. The expected outcomes include the identification of molecular and structural determinants of amyloidogenicity in key proteins such as A β , α -synuclein, tau, NPM1, and IAPP. Additionally, the development of peptide-based and fragment-derived molecular tools to study and modulate protein aggregation pathways is anticipated. Preliminary screening and validation of small molecules and metal complexes capable of modulating aggregation processes will also be conducted. The project will generate data supporting the use of aggregation-related species as biomarkers for early diagnosis. Finally, theranostic approaches will be explored. At the end of this stage, the most promising aggregation modulators and peptide-based probes will undergo conformational, cellular, and functional characterization in vitro and in disease-relevant models.

Significance and Innovation: This project explores the dual role of protein aggregation, not only as a pathogenic mechanism but also as a potential theranostic opportunity, opening new avenues for early disease detection and intervention. While protein aggregation has traditionally been considered a harmful event, emerging evidence suggests that its properties can be leveraged for clinical benefit. By focusing on disease-relevant amyloidogenic fragments and conducting detailed structural analyses, the project proposes an innovative approach to targeting early aggregation intermediates, which are often more toxic than mature fibrillar forms. This strategy could facilitate early and personalized interventions, representing a significant advancement over current symptom-based disease management models.

Translational relevance: The research of protein misfolding and aggregation, particularly in conserved regions affected by disease-associated mutations, aims to identify novel theranostic biomarkers relevant to multiple pathological conditions. This strategy could support early diagnosis and targeted intervention in neurodegenerative, hematological, and systemic diseases, which together affect millions of patients worldwide. For instance, Alzheimer's disease alone affects over 50 million people globally. The use of synthetic domains and cellular models will facilitate the functional validation of these targets, accelerating their clinical translation and may enhance personalized disease management.

9 : Sviluppo di agenti supramolecolari a base peptidica per il delivery di agenti diagnostici

Responsabile: Cimmino Luca

Programma:

Parole chiave: Peptidi, delivery, incapsulamento, nanostrutture, agenti diagnostici.

Altri enti coinvolti: Università degli studi di Napoli Federico II - Dipartimento di Farmacia
Università degli studi di Torino - UniTO

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

Anno inizio: 2025

Durata: 36

Tipologia: Metodologica

Area di interesse: Diagnostica

Project Classification IRG: Healthcare Delivery and Methodologies

Project Classification SS: Health Services Organization and Delivery - HSOD

Descrizione: Le nanotecnologie e la chimica supramolecolare integrano competenze da chimica, biologia, medicina e scienza dei materiali, permettendo la creazione di strutture nanometriche con proprietà specifiche. In ambito diagnostico, le nanopiatteforme offrono maggiore sensibilità, biodistribuzione ottimizzata e trasporto mirato di agenti diagnostici, migliorando l'accuratezza delle analisi. Un settore in crescita è l'impiego di materiali genetici come mRNA, siRNA e miRNA come biomarcatori per la diagnosi precoce. Questi acidi nucleici, espressi in modo differenziale in molte patologie, risultano però instabili e difficili da veicolare nei tessuti bersaglio. Per questo si sviluppano sistemi nanostrutturati capaci di proteggerli e trasportarli in modo selettivo. Le nanopiatteforme devono possedere caratteristiche definite, tra cui dimensioni controllate, purezza e composizione chimica precisa, ottenibili con approcci top-down o bottom-up. Un ruolo centrale è svolto dai peptidi, biocompatibili, sintetizzabili e facilmente modificabili. Tra i sistemi più studiati si trovano liposomi, micelle, fibre, idrogeli e nanogeli. Gli idrogeli, reti tridimensionali capaci di trattenere acqua e biomolecole, migliorano la qualità delle immagini diagnostiche. I nanogeli, più adatti alla somministrazione endovenosa, possono incapsulare siRNA e miRNA, aumentando la sensibilità delle tecniche di imaging.

Risultati e prodotti conseguiti: - Ottenimento di peptidi puri e strutturalmente caratterizzati, mediante tecniche analitiche avanzate (LC-MS, NMR, CD, FT-IR).
- Sviluppo di strutture supramolecolari peptidiche funzionali, come idrogel e nanogel, con proprietà controllate di gelificazione e aggregazione.
- Caratterizzazione morfologica e meccanica delle nanostrutture, inclusa la valutazione della stabilità, delle proprietà reologiche e delle dimensioni tramite tecniche come SEM, AFM, DLS e NTA.
- Caricamento efficiente di molecole bioattive e diagnostiche (RNA, miRNA, agenti di contrasto) in idrogel e nanogel, con rilascio controllato e quantificato.
- Dimostrazione di biocompatibilità e sicurezza in vitro, attraverso test di tossicità, emotossicità, immunogenicità e stabilità in siero.
- Valutazione in vivo della biodistribuzione e dell'efficacia diagnostica, con analisi della degradazione tissutale e della stabilità dei nanomateriali, a supporto di strategie diagnostiche non invasive.

Attività previste Le attività previste possono essere schematizzate nei seguenti punti:

- Sintesi e Caratterizzazione dei Peptidi: I peptidi saranno sintetizzati manualmente utilizzando la sintesi peptidica in fase solida con la strategia ortogonale Fmoc/tBu. Dopo la sintesi, verranno liofilizzati e purificati tramite cromatografia HPLC in fase inversa. Tecniche analitiche come LC-MS e spettroscopia NMR confermeranno purezza e identità chimica. La struttura secondaria sarà caratterizzata mediante Dicroismo Circolare (CD) e spettroscopia FT-IR.
- Preparazione delle Strutture Supramolecolari: Le nanostrutture peptidiche saranno sviluppate sciogliendo le polveri peptidiche in solventi appropriati (acqua, DMSO o tamponi) e determinando la loro concentrazione tramite spettroscopia UV-vis. La gelificazione sarà valutata con diverse tecniche analitiche (analisi reologica, cinetiche di aggregazione, etc.) Gli idrogel verranno trasformati in nanogel della dimensione desiderata tramite micronizzazione ottenuta mediante un approccio top-down.
- Caratterizzazione delle Nanostrutture: Il comportamento di aggregazione dei peptidi sarà analizzato utilizzando Microscopia Elettronica a Scansione (SEM) e Microscopia a Forza Atomica (AFM). Verranno eseguiti test biofisici per valutare la stabilità degli idrogel oltre a test reologici che ne determineranno le proprietà meccaniche, analisi reologiche e caratterizzazione delle particelle mediante Dynamic Light Scattering (DLS) o Nanoparticle Tracking Analysis (NTA).
- Caricamento e Rilascio: Sonde molecolari e materiali genetici, come RNA messaggero (mRNA), RNA interferente (siRNA) e microRNA (miRNA), oltre ad agenti di contrasto per imaging, saranno incapsulati negli idrogel e nanogel. La quantificazione del carico diagnostico sarà effettuata tramite spettroscopia (fluorescenza o UV-vis) o analisi RP-HPLC.
- Valutazioni Biologiche Preliminari: La tossicità e la biocompatibilità dei sistemi vuoti e l'attività dei sistemi caricati verranno valutate in vitro attraverso specifici test su opportune linee cellulari. Saranno inoltre eseguite analisi di emotossicità, stabilità nel siero e immunogenicità per verificare sicurezza e stabilità.

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

- Studi In Vivo: Studi su modelli animali valuteranno la biodistribuzione, l'eliminazione e l'efficacia diagnostica dei composti più promettenti. Verranno infine effettuati studi inerenti alla stabilità e alla degradazione dei nanomateriali nei tessuti, contribuendo a ottimizzare le strategie per una diagnostica non invasiva.

Background: Nanotechnology and supramolecular chemistry have become key interdisciplinary fields, combining insights from chemistry, medicine, biology, and materials science. Researchers have developed nanostructures with tailored physicochemical properties applicable to advanced diagnostics. Nanoplateforms offer enhanced sensitivity, improved biodistribution, and targeted delivery of diagnostic agents, increasing accuracy and enabling early disease detection. A growing trend in nanodiagnostics is the use of nucleic acids - mRNA, siRNA, and miRNA - as biomarkers, given their differential expression in diseases such as cancer and neurodegenerative disorders. Due to their instability and limited tissue targeting, nanostructured platforms are needed to protect and selectively deliver these molecules to cells of interest. Effective nanoplateforms require controlled size, uniformity, purity, and precise chemical composition. They are commonly produced via top-down approaches, reducing bulk materials into nanoscale components, or bottom-up methods, exploiting molecular self-assembly through non-covalent interactions. Peptides play a central role in these systems: they are biocompatible, easily synthesized, chemically tunable, and cost-effective. Their design enables formation of functional nanomaterials for diagnostics. Common nanodiagnostic systems include liposomes, micelles, fibers, hydrogels, and nanogels. Hydrogels retain large amounts of water and biomolecules, enhancing imaging performance. Nanogels, with smaller dimensions, are ideal for intravenous delivery and can encapsulate siRNA, miRNA, fluorophores, or metal nanoparticles, boosting imaging sensitivity and resolution.

Hypothesis and Significance: This research investigates peptide-based supramolecular materials - such as micelles, fibers, hydrogels, and nanogels - as innovative platforms for advanced diagnostics. We hypothesize that engineered peptides can stabilize, protect, and deliver contrast agents and RNA biomarkers (e.g., mRNA, siRNA, miRNA), enhancing diagnostic sensitivity and specificity. The study aims to bridge supramolecular chemistry and nanodiagnostics by developing peptide-derived nanostructures for bioimaging and genetic biomarker detection. These materials hold promise for early diagnosis of cancer and neurodegenerative diseases. Peptides offer tunable properties, enabling control over stability, biodistribution, and biocompatibility. By integrating molecular design, synthesis, and characterization, we seek to establish a flexible platform for next-generation diagnostics. This approach may advance personalized medicine through efficient, targeted, and minimally invasive detection strategies.

Specific Aims: The present research project aims to design, synthesize, and characterize peptide sequences capable of generating innovative supramolecular materials (such as liposomes, micelles, fibers, films, hydrogels, and nanogels) for applications in nanomedicine, with a particular focus on advanced diagnostics, bioimaging, and nucleic acid-based detection.

For instance, injectable hydrogels, or nanoparticles with a net positive charge will be evaluated as potential in vivo carriers for RNA-based biomarkers, such as messenger RNA (mRNA) and small interfering RNA (siRNA), enabling the early detection of pathological conditions, including cancer and neurodegenerative diseases.

The peptide sequences will be inspired by biologically relevant natural proteins or designed de novo using molecular dynamics approaches. These peptides may include both natural and non-natural amino acids. Synthetic peptides may also be derivatized with polymers to enhance the stability, biocompatibility, and diagnostic performance of the resulting materials.

Expected outcomes: This research is expected to yield significant advancements in the development of peptide-based supramolecular materials for diagnostic applications. Specifically, the study aims to:

- Design and characterize peptide-based nanostructures (e.g., liposomes, micelles, fibers, hydrogels, and nanogels) with well-defined physicochemical properties, enabling their use in bioimaging and molecular diagnostics.
- Enhance RNA-based biomarker detection by developing nanoplateforms capable of stabilizing and selectively delivering nucleic acids (mRNA, siRNA, miRNA) to target tissues, improving diagnostic accuracy for conditions such as cancer and neurodegenerative diseases.
- Evaluate the biocompatibility and performance of the developed systems through in vitro and in vivo studies, ensuring their suitability for clinical translation in diagnostic applications.
- Establish a modular and tunable platform that can be adapted for various diagnostic needs, contributing to the advancement of non-invasive and highly sensitive detection technologies.
- Ultimately, this research is expected to provide a foundation for innovative peptide-based nanodiagnostics, improving early disease detection and paving the way for personalized diagnostic strategies.

Programma per la ricerca corrente degli IRCCS 2025

Progetti

SYNLAB SDN S.p.a.

Significance and Innovation: This research introduces a novel approach to nanodiagnostics by leveraging peptide-based supramolecular materials for advanced bioimaging and nucleic acid detection. Unlike conventional systems, these biocompatible and tunable nanostructures enhance stability, specificity, and diagnostic accuracy. A key innovation is the development of peptide-based hydrogels and nanogels for the targeted stabilization and delivery of RNA biomarkers (mRNA, siRNA, miRNA), addressing challenges like degradation and inefficient uptake. Overall, this study bridges supramolecular chemistry and clinical diagnostics, contributing to early disease detection and precision medicine.

Translational relevance: Moreover, the modular and scalable nature of peptide-based nanostructures supports their adaptability to a wide range of diagnostic applications, potentially integrating with existing clinical workflows. By fostering innovation in molecular diagnostics and non-invasive imaging, this research contributes to the modernization and efficiency of the national healthcare system, ultimately improving patient care and public health outcomes.
