



Istituto Europeo di Oncologia S.r.l.

Bilancio d'esercizio al 31 dicembre 2021

Relazione della società di revisione indipendente
ai sensi dell'art. 14 del D. Lgs. 27 gennaio 2010, n. 39

Relazione della società di revisione indipendente ai sensi dell'art. 14 del D. Lgs. 27 gennaio 2010, n. 39

Ai Soci
dell'Istituto Europeo di Oncologia S.r.l.

Relazione sulla revisione contabile del bilancio d'esercizio

Giudizio

Abbiamo svolto la revisione contabile del bilancio d'esercizio dell'Istituto Europeo di Oncologia S.r.l. (la Società), costituito dallo stato patrimoniale al 31 dicembre 2021, dal conto economico e dal rendiconto finanziario per l'esercizio chiuso a tale data e dalla nota integrativa.

A nostro giudizio, il bilancio d'esercizio fornisce una rappresentazione veritiera e corretta della situazione patrimoniale e finanziaria della Società al 31 dicembre 2021, del risultato economico e dei flussi di cassa per l'esercizio chiuso a tale data, in conformità alle norme italiane che ne disciplinano i criteri di redazione.

Elementi alla base del giudizio

Abbiamo svolto la revisione contabile in conformità ai principi di revisione internazionali (ISA Italia). Le nostre responsabilità ai sensi di tali principi sono ulteriormente descritte nella sezione Responsabilità della società di revisione per la revisione contabile del bilancio d'esercizio della presente relazione. Siamo indipendenti rispetto alla Società in conformità alle norme e ai principi in materia di etica e di indipendenza applicabili nell'ordinamento italiano alla revisione contabile del bilancio. Riteniamo di aver acquisito elementi probativi sufficienti ed appropriati su cui basare il nostro giudizio.

Responsabilità degli amministratori e del collegio sindacale per il bilancio d'esercizio

Gli amministratori sono responsabili per la redazione del bilancio d'esercizio che fornisca una rappresentazione veritiera e corretta in conformità alle norme italiane che ne disciplinano i criteri di redazione e, nei termini previsti dalla legge, per quella parte del controllo interno dagli stessi ritenuta necessaria per consentire la redazione di un bilancio che non contenga errori significativi dovuti a frodi o a comportamenti o eventi non intenzionali.

Gli amministratori sono responsabili per la valutazione della capacità della Società di continuare ad operare come un'entità in funzionamento e, nella redazione del bilancio d'esercizio, per l'appropriatezza dell'utilizzo del presupposto della continuità aziendale, nonché per una adeguata informativa in materia. Gli amministratori utilizzano il presupposto della continuità aziendale nella redazione del bilancio d'esercizio a meno che abbiano valutato che sussistono le condizioni per la liquidazione della Società o per l'interruzione dell'attività o non abbiano alternative realistiche a tali scelte.

Il collegio sindacale ha la responsabilità della vigilanza, nei termini previsti dalla legge, sul processo di predisposizione dell'informativa finanziaria della Società.

Responsabilità della società di revisione per la revisione contabile del bilancio d'esercizio

I nostri obiettivi sono l'acquisizione di una ragionevole sicurezza che il bilancio d'esercizio nel suo complesso non contenga errori significativi, dovuti a frodi o a comportamenti o eventi non intenzionali, e l'emissione di una relazione di revisione che includa il nostro giudizio. Per ragionevole sicurezza si intende un livello elevato di sicurezza che tuttavia non fornisce la garanzia che una revisione contabile svolta in conformità ai principi di revisione internazionali (ISA Italia) individui sempre un errore significativo, qualora esistente. Gli errori possono derivare da frodi o da comportamenti o eventi non intenzionali e sono considerati significativi qualora ci si possa ragionevolmente attendere che essi, singolarmente o nel loro insieme, siano in grado di influenzare le decisioni economiche degli utilizzatori prese sulla base del bilancio d'esercizio.

Nell'ambito della revisione contabile svolta in conformità ai principi di revisione internazionali (ISA Italia), abbiamo esercitato il giudizio professionale e abbiamo mantenuto lo scetticismo professionale per tutta la durata della revisione contabile. Inoltre:

- abbiamo identificato e valutato i rischi di errori significativi nel bilancio d'esercizio, dovuti a frodi o a comportamenti o eventi non intenzionali; abbiamo definito e svolto procedure di revisione in risposta a tali rischi; abbiamo acquisito elementi probativi sufficienti ed appropriati su cui basare il nostro giudizio. Il rischio di non individuare un errore significativo dovuto a frodi è più elevato rispetto al rischio di non individuare un errore significativo derivante da comportamenti od eventi non intenzionali, poiché la frode può implicare l'esistenza di collusioni, falsificazioni, omissioni intenzionali, rappresentazioni fuorvianti o forzature del controllo interno;
- abbiamo acquisito una comprensione del controllo interno rilevante ai fini della revisione contabile allo scopo di definire procedure di revisione appropriate nelle circostanze, e non per esprimere un giudizio sull'efficacia del controllo interno della Società;
- abbiamo valutato l'appropriatezza dei principi contabili utilizzati nonché la ragionevolezza delle stime contabili effettuate dagli amministratori e della relativa informativa;
- siamo giunti ad una conclusione sull'appropriatezza dell'utilizzo da parte degli amministratori del presupposto della continuità aziendale e, in base agli elementi probativi acquisiti, sull'eventuale esistenza di una incertezza significativa riguardo a eventi o circostanze che possono far sorgere dubbi significativi sulla capacità della Società di continuare ad operare come un'entità in funzionamento. In presenza di un'incertezza significativa, siamo tenuti a richiamare l'attenzione nella relazione di revisione sulla relativa informativa di bilancio ovvero, qualora tale informativa sia inadeguata, a riflettere tale circostanza nella formulazione del nostro giudizio. Le nostre conclusioni sono basate sugli elementi probativi acquisiti fino alla data della presente relazione. Tuttavia, eventi o circostanze successivi possono comportare che la Società cessi di operare come un'entità in funzionamento;
- abbiamo valutato la presentazione, la struttura e il contenuto del bilancio d'esercizio nel suo complesso, inclusa l'informativa, e se il bilancio d'esercizio rappresenti le operazioni e gli eventi sottostanti in modo da fornire una corretta rappresentazione.

Abbiamo comunicato ai responsabili delle attività di governance, identificati ad un livello appropriato come richiesto dai principi di revisione internazionali (ISA Italia), tra gli altri aspetti, la portata e la tempistica pianificate per la revisione contabile e i risultati significativi emersi, incluse le eventuali carenze significative nel controllo interno identificate nel corso della revisione contabile.

Relazione su altre disposizioni di legge e regolamentari

Giudizio ai sensi dell'art. 14, comma 2, lettera e), del D. Lgs. 27 gennaio 2010, n. 39

Gli amministratori dell'Istituto Europeo di Oncologia S.r.l. sono responsabili per la predisposizione della relazione sulla gestione dell'Istituto Europeo di Oncologia S.r.l. al 31 dicembre 2021, inclusa la sua coerenza con il relativo bilancio d'esercizio e la sua conformità alle norme di legge.

Abbiamo svolto le procedure indicate nel principio di revisione (SA Italia) n. 720B al fine di esprimere un giudizio sulla coerenza della relazione sulla gestione con il bilancio d'esercizio dell'Istituto Europeo di Oncologia S.r.l. al 31 dicembre 2021 e sulla conformità della stessa alle norme di legge, nonché di rilasciare una dichiarazione su eventuali errori significativi.

A nostro giudizio, la relazione sulla gestione è coerente con il bilancio d'esercizio dell'Istituto Europeo di Oncologia S.r.l. al 31 dicembre 2021 ed è redatta in conformità alle norme di legge.

Con riferimento alla dichiarazione di cui all'art. 14, c.2, lettera e), del D. Lgs. 27 gennaio 2010, n. 39, rilasciata sulla base delle conoscenze e della comprensione dell'impresa e del relativo contesto acquisite nel corso dell'attività di revisione, non abbiamo nulla da riportare.

Milano, 8 aprile 2022

EY S.p.A.



Aldo Alberto Amorese
(Revisore Legale)

Istituto Europeo di Oncologia S.r.l.

Sede Legale in Milano – Via Filodrammatici, n. 10

Capitale Sociale Euro 80.579.007 i.v.

Registro delle Imprese di Milano n. 08691440153

Codice Fiscale e Partita IVA n. 08691440153

Relazione del Consiglio di Amministrazione sulla gestione

Signori Soci,

l'esercizio chiude con un utile pari ad € 2.202.502 (€ 796.104 nel 2020) considerato l'impatto negativo di imposte per tassazione corrente e differita per € 1.280.958 (positivo per € 3.277.139 nel 2020), nonché ammortamenti e svalutazioni per complessivi € 12.666.084 (€ 11.887.614 nel 2020) e comprensivo del ripristino di valore per € 264.509 (€ 2.338.905 nel 2020) della controllata Centro Cardiologico Monzino S.p.A.

Attività societaria

Per il secondo anno consecutivo, l'Istituto Europeo di Oncologia è il primo ospedale italiano fra le eccellenze mondiali in oncologia, come determinato dalla classifica "World's Best Specialized Hospitals 2022" e in decima posizione nel ranking mondiale dei migliori ospedali per l'area oncologica.

Si tratta di un significativo riconoscimento internazionale per il quale merita un ringraziamento anche tutto il personale, che dedica il suo impegno e la sua professionalità alla Ricerca e all'attività Clinica a favore dei pazienti. L'iniziativa di Newsweek nasce dall'esigenza di aiutare a orientare correttamente la popolazione in una sanità globale, con l'obiettivo di indicare quali ospedali offrono il più alto standard di cura a livello internazionale.

L'esercizio registra un incremento dei ricavi per complessivi € 32,3 milioni, riferibile principalmente per € 18,3 milioni all'incremento dell'attività solvente, per 8,8 € milioni all'incremento dell'attività SSN di cui € 6,4 milioni concernenti l'aumento del "rimborso farmaci SSN" (ossia dei ricavi per farmaci antitumorali somministrati ambulatorialmente, che vengono rimborsati dal Servizio Sanitario ed il cui costo è incluso nei costi dei medicinali), € 2,4 milioni relativo alle prestazioni ambulatoriali, per € 2,7 milioni all'incremento delle sopravvenienze attive, per € 2,2 milioni all'incremento dei Contributi per programmi di ricerca, per € 0,6 milioni all'incremento dei riconoscimenti per "Funzioni non tariffabili".

E' proseguita l'attività dell'Istituto nel ruolo di "hub" oncologico al servizio dei pazienti, come da Piano Regionale in supporto agli altri ospedali più direttamente impegnati nella gestione dei pazienti COVID-19.

L'incremento dei costi di produzione è stato complessivamente pari ad € 24,9 milioni.

Con riferimento ai dati relativi all'attività clinica 2021, i pazienti dimessi (ordinari e *day-hospital*) sono stati n. 16.935 (n. 15.829 nel 2020) per un totale di n. 47.549 giorni di degenza (n. 45.143 nel 2020).

L'attività chirurgica si è attestata a n. 13.789 interventi (n. 12.249 in anestesia generale e n. 1.540 in anestesia locale), con un incremento (6,51%) rispetto al 2020 (n. 12.946 interventi nel 2020).

L'attività di chirurgia robotica mini invasiva si è attestata n. 1.080 interventi (n. 1.101 nel 2020). Si segnala altresì che gli interventi in regime di *Day-Surgery* effettuati nelle strutture dello IEO *Day Centre* nel 2021 sono stati n. 4.187 (n. 3.303 nel 2020).

Nell'esercizio trascorso è continuato lo sviluppo dei *trials* clinici sponsorizzati e della ricerca clinica.

Secondo gli ultimi dati disponibili pubblicati nel PNE (Programma Nazionale Esiti) di AGENAS (Agenzia Nazionale per i Servizi Sanitari Regionali) l'Istituto su tutte le patologie ad alta incidenza nella popolazione è presente con elevati volumi di attività. Nello specifico è leader a livello nazionale come volumi per mammella e al secondo posto per: prostata, rene, polmone, utero, e ovaio. In termini di qualità delle cure i dati comparativi presenti nel PNE e consistenti nel tasso di complicanze/mortalità, manifestano l'ottima qualità clinica dell'Istituto in tutte le patologie trattate e monitorate. I dati dell'ultimo PNE si riferiscono al 2020 e consentono di valutare le implicazioni della pandemia in Italia e per l'Istituto.

Nel corso dell'esercizio, l'Istituto è stato sottoposto ad *audit* da parte dell'Azienda Territoriale Sanitaria per l'accreditamento dell'Area Solventi, Area Checkup, Ambulatorio di Odontoiatria presso il Poliambulatorio di IEO Centro di via San Luca.

Nel mese di aprile l'Istituto ha sostenuto e superato per la 5° volta la visita di Certificazione secondo la norma ISO 9001:2015 con l'ente di certificazione Certiquality.

Nel mese di giugno l'Istituto è stato sottoposto, primo ospedale in Italia, alla settima visita di accreditamento da parte della Joint Commission International superando in maniera positiva la *survey* e rinnovando il certificato di accreditamento per altri 3 anni.

Il Ministero della Salute ha confermato allo IEO lo stato di "Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico (IRCCS)". Il provvedimento è stato pubblicato sulla gazzetta Ufficiale dal titolo: "Conferma del riconoscimento del carattere scientifico dell'IRCCS di diritto privato «Istituto europeo di oncologia», in Milano, nella disciplina di «patologia oncologica»".

Nel mese di ottobre la divisione di Endoscopia è stata sottoposta ad audit per l'accreditamento SIED (Società Italiana Endoscopia Digestiva) ottenendo per la seconda volta il riconoscimento nazionale.

Dopo un progetto di accreditamento durato circa tre anni, nel mese di novembre l'Istituto è stato accreditato per far parte della rete Europea dei tumori rari ERN EURACAN per le seguenti categorie: sarcomi dei tessuti molli, tumori ovarici rari, tumori testicolari, NET, tumori tiroidei "refractory", mesoteliomi pleurici, tumori del timo.

L'Istituto, al fine di verificare la qualità dei servizi offerti ed il mantenimento degli standard internazionali, prosegue il programma di *internal audit* composto da 25 *audit* all'anno gestito da *auditor* interni certificati che verificano le aree con processi maggiormente critici quali: blocco operatorio, gestione delle cartelle, uso dei farmaci, prevenzione delle infezioni, sicurezza della struttura.

Sono continuati gli investimenti in ambito di attrezzatura sanitaria anche con nuove TAC e TAC-PET, di avanzamento della costruzione del Proton Center e di varie ottimizzazioni degli spazi oltre che di adeguamento dell'infrastruttura informatica e dei *software* gestionali.

Nel mese di aprile, l'Istituto è stato oggetto di un attacco informatico da parte di criminali internazionali, con l'obiettivo di bloccare l'attività dell'Istituto e di ottenere un riscatto economico in cambio del ritorno della disponibilità dei dati. La sicurezza informatica in essere ha permesso, anche tramite i *back up* predisposti, di proseguire l'attività clinica e di ricerca senza alcuna sospensione e senza pagare alcun riscatto. Dopo le dovute denunce a Polizia Postale e Garante per la Privacy, è stato inoltre avviato un ampio piano di rafforzamento del monitoraggio IT e del contrasto alla pirateria informatica dal punto di vista tecnico, infrastrutturale e di formazione degli utenti, con l'obiettivo di tutelare in modo sempre più efficace ed efficiente l'attività dell'Istituto e la privacy dei pazienti.

E' in fase di predisposizione il Bilancio Sociale con base 31 dicembre 2021. Il progetto, in corso con il coinvolgimento di numerosi medici, infermieri e membri dello staff, ha l'obiettivo di dare opportuna visibilità sia ai valori etici e sociali che da sempre indirizzano l'attività dell'Istituto sia agli obiettivi conseguiti che non possono trovare completo riscontro nel Bilancio Civile. Il Bilancio Sociale sarà disponibile dopo l'approvazione del Bilancio Civile al 31 dicembre 2021.

Contesto di mercato

Il contesto di mercato di riferimento è stato caratterizzato, grazie soprattutto all'intensa campagna vaccinale ed ai minori effetti della variante Omicron del COVID-19, da una domanda regionale crescente

e, per contro, dalle limitazioni derivanti dai budget di prestazioni di servizi erogabili annualmente per l'attività convenzionata con il Servizio Sanitario Regionale. In generale, il 2021 ha visto un recupero dell'attività clinica rispetto al 2020 ma ancora inferiore al 2019, soprattutto per i pazienti fuori Regione. L'erogazione di prestazioni di ricoveri ed ambulatoriali ai pazienti Regionali, ha superato nuovamente il tetto Regionale di rimborsi e l'attività su pazienti solventi è risalita superando i livelli pre-pandemici del 2019. I ricavi relativi all'attività su pazienti extraregionali sono aumentati rispetto al 2020 ma non fino ai livelli del 2019, a causa di limiti alla mobilità infraregionale e di un trend che l'Istituto sta contrastando anche con una rinnovata offerta di servizi.

Pur con grande attenzione ai flussi di cassa, sono ripartiti gli investimenti previsti, l'arruolamento dei pazienti per trials clinici è continuato in modo solido e la produzione scientifica è proseguita superando anche i livelli record di Impact Factor conseguiti nel 2020.

Il 2021 è stato un esercizio ancora molto condizionato dalla pandemia da COVID-19 pur rimanendo invariato l'impegno relativo al monitoraggio con tamponamento molecolare ed antigenico di tutti i pazienti in ingresso per attività di ricovero e di tutti i dipendenti con finalità di medicina preventiva. Sebbene con carichi di lavoro inferiori rispetto al 2020, è proseguita anche la funzione di "hub" per le patologie oncologiche come indicato dalla Regione Lombardia in forza della specializzazione e della qualità clinica dell'Istituto, accogliendo e fornendo terapie a pazienti con questa patologia provenienti da altri Istituti.

Con riferimento all'attività COVID-19, l'Istituto ha effettuato tamponi, distribuito dispositivi di protezione individuale (DPI), acquisito servizi specifici e investito in attrezzature per complessivi € 1,6 milioni, coperti tramite finanziamento soprattutto proprio ed in parte tramite donazioni.

L'Istituto opera prevalentemente nel mercato della sanità pubblica, disciplinato dalle regole stabilite dal Servizio Sanitario Regionale e Nazionale, erogando prestazioni di ricovero e di assistenza specialistica ambulatoriale secondo l'assetto organizzativo per il quale risulta iscritto nel Registro delle Strutture Accreditate. Tale normativa prevede che le Strutture Accreditate si impegnino, da un lato, a mantenere nel tempo i requisiti organizzativi e di accreditamento inerenti la dotazione organica e gli *standards* di assistenza al paziente previsti dalla normativa statale e regionale vigente e, dall'altro lato, a garantire l'erogazione delle prestazioni.

In particolare ogni anno, in ottemperanza alla Delibera Regionale (c.d. Regole di Sistema), tra la ATS e ogni struttura sanitaria accreditata viene sottoscritto un contratto annuale per l'erogazione, a favore dei cittadini residenti in Lombardia, di prestazioni di ricovero, di specialistica ambulatoriale e di diagnostica strumentale per le quali viene definito un *budget* di remunerazione.

Nel mese di giugno 2021 l'Istituto ha sottoscritto il contratto integrativo con la ATS (in base a quanto previsto dalla D.G.R. n. XI/4733 del 26 maggio 2021) nel quale è stato assegnato all'Istituto Europeo di Oncologia un *budget* per l'anno 2021 pari ad € 52.437.649 per le attività di ricovero, di cui € 21.410.629 a favore dei cittadini residenti in Regione Lombardia, e ad € 37.307.108 per le attività di specialistica ambulatoriale e diagnostica strumentale, di cui € 18.689.975 a favore dei cittadini residenti in Regione Lombardia. I rimborsi sono assoggettati a regressioni tariffarie crescenti a valere fino a quota 106%, oltre tale limite non viene garantita la remunerazione delle prestazioni. Nel mese di ottobre 2021, inoltre, l'Istituto ha firmato un addendum contrattuale con la ATS (in ottemperanza alla D.G.R. n. XI/5173 del 02 agosto 2021), nel quale è stata assegnata una quota complessiva di risorse fino a un massimo di € 1.570.101 per l'erogazione delle prestazioni aggiuntive di ricovero programmato ordinario per acuti e di € 422.623 per l'erogazione delle prestazioni aggiuntive di specialistica ambulatoriale.

Con la sottoscrizione del contratto, l'Istituto si è impegnato a un'adeguata programmazione delle proprie attività, mediante un'omogenea allocazione mensile delle risorse assegnate, al fine di garantire la continuità del servizio nel corso dell'anno.

Andamento dell'esercizio

Il Valore della produzione ammonta ad € 258,4 milioni, con un incremento pari ad € 32,3 milioni (14,3%) rispetto al 2020.

La produzione clinica effettiva è stata pari ad € 266,3 milioni (€ 187,1 milioni nel 2020), e ha comportato la contabilizzazione di note credito per maggiore produzione non riconosciuta dalla ATS per € 7,9 milioni (€ 6,9 milioni nel 2020) relative all'eccedenza delle prestazioni ambulatoriali e di ricovero rispetto al *plafond* assegnato.

Le sopravvenienze attive, in aumento per € 2,7 milioni rispetto all'esercizio precedente, sono costituite da maggiori riconoscimenti di ATS Città di Milano e Regione Lombardia a valere sullo scorso esercizio (per attività ambulatoriale € 3,9 milioni, drg € 2,4 milioni, funzioni ospedaliere € 1,5 milioni, "File F" 2020 € 0,3 milioni), da note credito su costi degli esercizi precedenti (€ 1,2 milioni), da maggiori ricavi derivanti da esercizi precedenti (€ 0,5 milioni), dalla proventizzazione del fondo rischi assicurativi (€ 0,4 milioni).

L'Istituto ha stabilito di destinare, per l'esercizio 2021, il contributo 5 per mille (a valere sui fondi destinati alla "Ricerca Sanitaria") a progetti relativi all'innovazione clinica (per € 5,3 milioni), e a progetti di ricerca (nuovi bersagli molecolari per € 1,4 milioni).

La Legge del 23 dicembre 2014, n. 190 208 (Legge di Stabilità 2015), all'art. 1 comma 154, prevede anche per l'esercizio finanziario 2021, la facoltà di destinare in base alla scelta del contribuente una quota pari al 5 per mille dell'imposta sul reddito delle persone fisiche.

L'aumento dei costi, rispetto allo scorso esercizio, pari complessivamente al 10,8% è dovuto principalmente all'incremento dei consumi di farmaci e parafarmaci per € 10,4 milioni, dei servizi per € 5,8 milioni, del costo del personale per € 7,5 milioni.

Al risultato d'esercizio ha contribuito positivamente il parziale ripristino di valore, nell'ambito di precedenti svalutazioni del costo storico di acquisto, della controllata Centro Cardiologico Monzino S.p.a. per € 0,3 milioni.

Le imposte di periodo sono negative per € 1,3 milioni e considerano gli effetti di imposte anticipate nette per € 0,3 milioni oltre sopravvenienze attive relative ad imposte riferibili allo scorso esercizio.

Gli investimenti sono stati pari ad € 15,7 milioni (di cui € 0,7 milioni a valere sulla ricerca).

La posizione finanziaria netta dell'Istituto è positiva e pari ad € 34,0 milioni (€ 37,5 milioni al 31 dicembre 2020) e considera per € 12,5 milioni il debito verso la controllata Centro Cardiologico Monzino derivante dalle operazioni di *cash pooling* con la stessa nonché l'incasso dei contributi 5x1000 a valere sulle campagne 2020 (€ 7,7 milioni). Si segnala che nel mese di febbraio 2022 l'Istituto ha incassato da ATS Città di Milano € 9,7 milioni a valere sui saldi dell'esercizio 2020.

Al fine di fornire una migliore comprensione dell'andamento dell'esercizio, di seguito si riportano il conto economico riclassificato, lo stato patrimoniale riclassificato, il prospetto fonti e impieghi e l'analisi per indici confrontati con quelli relativi al precedente esercizio.

Conto economico	2021 €/000	% ricavi totali	2020 €/000	% ricavi totali	Δ €/000	Δ % sul 2020
Ricavi clinici	207.868	80,5	180.254	79,7	27.614	15,3
Contributi di ricerca	27.124	10,5	24.899	11,0	2.225	8,9
Altri ricavi	23.382	9,0	20.954	9,3	2.428	11,6
Totale ricavi	258.374	100,0	226.107	100,0	32.267	14,3
Materiali	62.910	24,3	52.486	23,2	10.424	19,9
Prestazioni di servizi e oneri di gestione	77.195	29,9	71.265	31,5	5.930	8,3
Iva indetraibile	12.749	4,9	11.799	5,2	950	8,1
Costo del lavoro	91.394	35,4	83.933	37,1	7.461	8,9
MOL (EBITDA)	14.126	5,5	6.624	2,9	7.502	113,3
Ammortamenti	11.293	4,4	11.177	4,9	116	1,0
Risultato operativo (EBIT)	2.833	1,1	(4.553)	(2,0)	7.386	(162,2)
Proventi (oneri) finanziari netti	(167)	(0,1)	(220)	(0,1)	53	(24,1)
Ripristino valore della controllata	265	0,1	2.339	1,0	(2.074)	(88,7)
Effetti sulle altre partecipazioni	553	0,2	(47)	0,0	600	(1.276,6)
Risultato ante imposte	3.484	1,3	(2.481)	(1,1)	5.965	(240,4)
Imposte	(1.281)	(0,5)	3.277	1,4	(4.558)	(139,1)
Risultato d'esercizio	2.203	0,9	796	0,4	1.407	176,8

Stato Patrimoniale	2021	%	2020	%	Δ	Δ % sul 2020
Immobilizzazioni tecniche nette	82.674	80,6	80.034	82,7	2.640	46,2
Immobilizzazioni Immateriali	3.783	3,7	3.728	3,9	55	1,0
Immobilizzazioni finanziarie	58.753	57,3	58.102	60,0	651	11,4
Immobilizzazioni nette	145.210	141,6	141.864	146,5	3.346	58,6
Magazzino	8.411	8,2	8.980	9,3	(569)	(10,0)
Crediti commerciali netti	44.382	43,3	30.672	31,7	13.710	240,1
Altre attività correnti	11.078	10,8	11.106	11,5	(28)	(0,5)
Debiti commerciali	(49.698)	(48,5)	(41.994)	(43,4)	(7.704)	(134,9)
Altre passività correnti	(51.629)	(50,4)	(48.602)	(50,2)	(3.027)	(53,0)
Capitale circolante netto	(37.456)	(36,5)	(39.838)	(41,2)	2.382	41,7
Fondo T.F.R.	(5.233)	(5,1)	(5.216)	(5,4)	(17)	(0,3)
Capitale Investito Netto	102.521	100,0	96.810	100,0	5.711	100,0
Capitale sociale	80.579	78,6	80.579	83,2	0	0
Riserve	53.703	52,4	52.907	54,7	796	13,9
Risultato d'esercizio	2.203	2,1	796	0,8	1.407	24,6
Patrimonio netto	136.485	133,1	134.282	138,7	2.203	38,6
Titoli	0	0	0	0	0	0
Finanziamento intragruppo - cashpooling (Disponibilità)	12.501 (46.465)	12,2 (45,3)	13.821 (51.293)	14,3 (53,0)	(1.320) 4.828	(23,1) 84,5
Debiti/(Disponibilità) finanziarie nette	(33.964)	(33,1)	(37.472)	(38,7)	3.508	61,4

Prospetto Fonti Impieghi		
	2021	2020
Debiti/(disponibilità) finanziarie iniziali	(37.472)	(31.763)
Margine operativo lordo	14.126	6.624
Investimenti netti	(13.988)	(18.598)
Variazione capitale circolante netto	(2.382)	14.848
Variazione netta TFR	17	(222)
Flusso di cassa operativo	(2.227)	2.652
Proventi/(Oneri) finanziari netti		(220)
Imposte	(1.281)	3.277
Flusso di cassa netto	(3.508)	5.709
Debiti/(disponibilità) finanziarie finali	(33.964)	(37.472)

INDICI ECONOMICI		
	2021	2020
	2.203	796
ROE	135.384	133.884
	1,6%	0,6%
	2.833	(4.553)
ROI	99.666	99.267
	2,8%	(4,6)%
	2.833	(4.553)
ROS	258.374	226.107
	1,1%	(2,0)%

INDICI STRUTTURA		2021	2020
INDICE DI STRUTTURA SECCO	PATRIMONIO NETTO	136.485	134.282
	CAPITALE FISSO	145.210	141.864
		94,0	94,7
QUOZIENTE DI DISPONIBILITA'	CAPITALE CIRCOLANTE	97.835	88.765
	PASSIVO CORRENTE	101.327	91.131
		96,6	97,4
QUOZIENTE DI TESORERIA	LIQUIDITA' IMMEDIATE+DIFFERITE	89.424	79.785
	PASSIVO CORRENTE	101.327	91.131
		88,3	87,5
ROTAZIONE DI MAGAZZINO	GIACENZA MEDIA DI MAGAZZINO	8.696	9.105
	CONSUMI	62.910	52.486
	GIORNI	51	63
ROTAZIONE DEI CREDITI	GIACENZA MEDIA DEI CREDITI	37.527	44.839
	RICAVI DI VENDITE	207.868	180.254
	GIORNI	66	91

Si forniscono di seguito alcuni dati di attività gestionali dell'anno 2021:

	2021	2020	Variaz. %
Giornate di degenza	47.549	45.143	5,33%
Ricoveri (dimessi)	16.935	15.829	6,99%
n. interventi	13.789	12.946	6,51%
n. visite	192.267	157.007	22,46%
n. esami TC	23.045	20.026	15,08%
n. esami MRI	15.395	13.146	17,11%
n. esami PET	5.558	4.584	21,25%
n. esami mammografici	31.893	22.892	39,32%
Radioterapie (*)	34.140	32.442	5,23%

(*) Il numero di accessi in radioterapia dipende dagli schemi terapeutici adottati i quali prevedono frazionamenti e prescrizioni di dose, quindi di cicli in funzione alla patologia e alla clinica del paziente.

Seguono alcune informazioni relative alla composizione del personale dipendente, all'età ed altre.

TABELLA DI SINTESI PERSONALE DIPENDENTE							
	N° (*)	N° (*)	Anzianità Lavorativa media (anni)	Età media (anni)	Ore medie Infortunio	Ore medie Malattia	
	2021	2020	2021	2021	2021	2021	2021
Contratti a tempo indeterminato							
Personale medico							
Donne	124	124	11,4	48,0	1,0	18,4	
Uomini	97	99	14,2	51,5	7,6	17,5	
Personale non medico							
Donne	441	438	13,2	41,9	5,9	71,4	
Uomini	188	190	12,4	42,7	4,4	45,4	
Personale non medico (Quadri e Dirigenti)							
Donne	60	59	14,2	48,7	0,9	27,1	
Uomini	20	17	8,5	45,6	0,4	11,8	
Amministrativi							
Donne	259	256	15,1	46,2	2,3	73,4	
Uomini	69	69	11,7	43,9	-	74,4	
Personale Amministrativo (Quadri e Dirigenti)							
Donne	22	21	15,0	50,2	-	27,7	
Uomini	16	16	12,3	52,6	5,2	17,3	
Totale personale a tempo indeterminato	1.296	1.289					
Contratti a tempo determinato							
Personale non medico							
Donne	16	14	0,6	25,4	4,5	18,7	
Uomini	3	8	0,2	26,3	-	12,0	
Personale non medico (Quadri e Dirigenti)							
Donne	4	6	1,9	35,8	-	41,5	
Uomini	-	-	-	-	-	-	
Amministrativi							
Donne	10	7	0,9	30,1	7,3	38,5	
Uomini	5	2	0,6	30,4	-	13,0	
Personale Amministrativo (Quadri e Dirigenti)							
Donne	-	-	-	-	-	-	
Uomini	-	-	-	-	-	-	
Personale medico							
Donne	1	-	0,2	32,0	-	-	
Uomini	-	2	-	-	-	-	
Totale personale a tempo determinato	39	39					
TOTALE DIPENDENTI	1.335	1.328					

(*) Non è considerato il personale interinale.

Si segnala che il 97,1 % del personale (97,1 % nel 2020) risulta impiegato con contratto a tempo indeterminato.

Attività di ricerca e sviluppo

L'attività di ricerca svolta in IEO integra ricerca clinica e ricerca traslazionale, svolta presso il dipartimento di oncologia sperimentale. Le attività di ricerca di base, traslazionale e clinica di tipo oncologico svolte nel corso del 2021 sono sintetizzate di seguito.

Ricerca traslazionale.

Meccanismi di tumorigenesi.

Abbiamo mostrato in che modo la capacità di Myc di legare in maniera aspecifica il DNA ne influenzi il suo legame specifico al fine di regolare l'espressione genica.

Myc è un fattore di trascrizione che, regolando l'espressione di un gran numero di geni, controlla processi critici come la proliferazione cellulare, in cellule normali e tumorali. Myc si associa con la proteina Max a formare un dimero. Il dimero ha la capacità di legare il DNA sia in maniera specifica che in maniera aspecifica. Per far luce su questa questione e definire il contributo delle due proprietà di Myc (ovvero legame specifico e aspecifico al DNA) all'espressione genica, abbiamo disegnato mutanti di Myc in cui l'abilità di legame al DNA era alterata. Entrambi i mutanti venivano espressi in livelli paragonabili e la stabilità della proteina non era alterata. Tuttavia, uno dei mutanti, pur essendo ancora in grado di associarsi con Max, perdeva qualsiasi capacità di legare il DNA (mutante Myc-RA); l'altro mutante era solo in grado di legare il DNA in maniera aspecifica (mutante Myc-HEA). Al fine di determinare l'effetto di queste mutazioni sulla proliferazione cellulare, prima di tutto abbiamo indotto l'arresto della proliferazione inattivando Myc endogeno. In queste condizioni, mentre la successiva espressione di Myc WT (ovvero non mutato) era in grado di ripristinare la proliferazione cellulare, l'espressione dei mutanti non era sufficiente, dimostrando come fossero biologicamente inattivi. Il legame di Myc ad elementi regolatori del genoma è generalmente diffuso. Tuttavia, uno dei mutanti (Myc-RA) mostrava una ridotta abilità di legame, mentre l'altro mutante (Myc-HEA) manteneva la capacità di legarsi in maniera aspecifica al DNA, guidato principalmente da caratteristiche del DNA -come l'accessibilità- piuttosto che dalla sequenza, ma non riconosceva le specifiche sequenze del DNA normalmente legate da Myc WT. Nel complesso i nostri dati suggeriscono che il legame non specifico al DNA è necessario perché Myc resti associato con regioni accessibili del DNA piuttosto che libero nel nucleoplasma. L'associazione con il DNA consente il successivo legame a specifiche sequenze del DNA. abbiamo successivamente analizzato l'effetto sulla trascrizione dei diversi comportamenti dei due mutanti di Myc. Il profilo di espressione genica nelle cellule che esprimevano i mutanti Myc-HEA era profondamente diverso da quello associato all'espressione di Myc WT, dimostrando che il legame aspecifico di Myc al DNA è necessario per una corretta espressione genica. Da un lato, questo potrebbe

dipendere dal fatto che quando Myc riconosce in maniera specifica una sequenza di DNA, si lega per un tempo più lungo, aumentando così le probabilità di attivare la trascrizione (e influenzando il profilo di espressione genica); dall'altro lato, la sequenza del DNA riconosciuta in maniera specifica potrebbe contribuire direttamente all'attività di Myc. I nostri studi hanno quindi dimostrato che mentre il legame sequenza-specifico di Myc al DNA è cruciale per una corretta espressione genica, questo step avviene comunque in seguito al legame non specifico di Myc al DNA e necessita del legame aspecifico al DNA (PMID 33792944 doi: 10.15252/emj.2020105464).

Abbiamo mostrato che l'inibizione di LSD1 -proteina frequentemente sovraespressa nei tumori e la cui sovraespressione è associata con una cattiva prognosi- riduce l'espressione di GSE1, una proteina che interagisce con LSD1.

Un livello di espressione più basso di GSE1 determina una riduzione del legame della proteina a specifiche regioni del DNA coinvolte nel differenziamento cellulare e interferendo con l'espressione di GSE1 è possibile indurre il differenziamento delle cellule leucemiche, limitando così la progressione della leucemia. Abbiamo osservato che sia l'inibizione che la rimozione genetica di LSD1 riducevano l'espressione della proteina GSE1 (nello specifico, interferendo con la traduzione, senza influenzare né i livelli di RNA messaggero né la stabilità della proteina). In vitro, la ridotta espressione della proteina GSE1 limitava la sopravvivenza delle cellule ed aumentava la morte cellulare; in vivo, i livelli più bassi di GSE1 rallentavano la progressione del tumore e prolungavano la sopravvivenza degli animali. Esplorando i meccanismi molecolari coinvolti, abbiamo scoperto che la minore espressione di GSE1 -sia indotta tramite silenziamento che sfruttando inibitori di LSD1- era la causa di una riduzione del legame di GSE1 al DNA; ciò a sua volta influenzava l'espressione di diversi geni (principalmente geni coinvolti nella risposta immune e infiammatoria, e nella proliferazione cellulare). L'alterazione dell'espressione genica che ne conseguiva rimuoveva il blocco del differenziamento che caratterizza le cellule leucemiche -come mostrato sia in linee cellulari che in cellule primarie isolate da pazienti- inducendo quindi il differenziamento. Quindi, se la ridotta espressione di GSE1 induce il differenziamento delle cellule leucemiche, quando invece è espresso, previene il differenziamento. Inoltre, abbiamo anche dimostrato che GSE1 favoriva l'emergere di tratti tipici delle cellule staminali tumorali, suggerendo un ruolo di GSE1 nel promuovere la progressione del tumore. Una conferma ulteriore del ruolo pro-tumorigenico di GSE1 è emerso anche dall'analisi dei dati di pazienti: abbiamo osservato che i pazienti leucemici erano caratterizzati da una più elevata espressione della proteina GSE1, e che questa maggiore espressione correlava con l'aumentata espressione di diversi geni (soprattutto di geni associati alla risposta infiammatoria e immune); inoltre, i pazienti che avevano un'espressione di GSE1 più elevata, avevano un più alto numero di cellule leucemiche nel sangue. È interessante sottolineare che i pazienti leucemici

del sottotipo APL (leucemia promielocitica acuta) che mostravano una maggiore espressione di GSE1 avevano una prognosi peggiore rispetto a quelli in cui i livelli di GSE1 erano più bassi. In conclusione, abbiamo definito un nuovo meccanismo d'azione degli inibitori di LSD1 nelle cellule leucemiche, attraverso la regolazione -nello specifico, la down-regolazione- dell'espressione della proteina GSE1. Il nostro lavoro propone quindi GSE1 come nuovo fattore pro-tumorigenico nella leucemia e un potenziale bersaglio farmacologico (PMID 34862459 doi: 10.1038/s41388-021-02123-7).

Abbiamo identificato il ruolo di L1CAM nelle cellule staminali tumorali ovariche, mostrando che L1CAM è necessaria e sufficiente a conferire i tratti tipici delle cellule staminali.

Le cellule staminali tumorali (una sottopopolazione di cellule tumorali dotate della capacità di autorinnovarsi) giocano un ruolo fondamentale nell'insorgenza della recidiva, nella disseminazione metastatica e nella chemioresistenza e pertanto eliminare le cellule staminali tumorali appare l'approccio ideale per eliminare completamente il tumore. Tuttavia, da un punto di vista biomolecolare, queste cellule sono scarsamente caratterizzate e quindi attualmente non esistono terapie in grado di colpirle in maniera mirata. L1CAM è una proteina transmembrana inizialmente identificata nello sviluppo neuronale; successivamente, alterazioni nei livelli di L1CAM sono state riscontrate anche in diversi tumori solidi, incluso il tumore ovarico, e la sua espressione è stata associata ad una prognosi infausta e alla disseminazione metastatica. Noi abbiamo dimostrato che L1CAM è coinvolta nello sviluppo del tumore ovarico e nella chemioresistenza, e hanno definito il pathway cellulare (L1CAM/FGFR1/SRC/STAT3) implicato, che potrebbe rappresentare un nuovo efficace target farmacologico contro il tumore ovarico. In particolare, abbiamo mostrato, sia in vitro (tramite il "saggio di formazione delle sfere", in cui le cellule con capacità di autorinnovarsi sono in grado di proliferare e formare delle sfere di cellule tumorali) che in vivo (tramite iniezione nei topi di cellule che esprimono L1CAM), che silenziando l'espressione di L1CAM si riduceva il numero di cellule staminali tumorali e l'abilità di queste cellule di supportare la crescita del tumore, mentre l'espressione di L1CAM in cellule che normalmente non lo esprimevano ripristinava le caratteristiche delle cellule staminali tumorali e l'abilità di supportare la progressione del tumore, anche in assenza di specifici fattori di crescita (EGF e FGF2). L'espressione di L1CAM è quindi sufficiente ad indurre nelle cellule le proprietà staminali ed è richiesto per mantenere queste caratteristiche. L'espressione di L1CAM conferiva inoltre alle cellule la capacità di resistere alla chemioterapia. Infatti, il trattamento delle cellule staminali tumorali che esprimevano L1CAM con specifici anticorpi contro L1CAM, neutralizzando l'attività della proteina, riducevano la chemioresistenza, aumentando così la tossicità del trattamento chemioterapico. Ulteriori analisi ci hanno consentito di identificare i meccanismi molecolari coinvolti: L1CAM modula l'espressione di diversi geni (inclusi i classici geni associati alla staminalità come OCT4, CD44 e TWIST1 e riduceva l'espressione di CD24). In

particolare, l'espressione di L1CAM induce l'attivazione di uno specifico pathway FGFR1/SRC/STAT3: L1CAM interagisce con il recettore di FGF (FGFR1), il quale attiva Src; Src a sua volta attiva STAT3, con conseguente induzione delle caratteristiche staminali tumorali e progressione del tumore. Infatti, il trattamento delle cellule che esprimevano L1CAM con inibitori di STAT3 limitava l'abilità di queste cellule di supportare la crescita del tumore e aumentava la tossicità nelle cellule trattate con chemioterapia (quindi in pratica riduceva la chemioresistenza), sia in vitro che in vivo. Il nostro studio ha quindi mostrato che, nel tumore ovarico, l'espressione di L1CAM determina l'acquisizione da parte delle cellule delle proprietà staminali tumorali e hanno identificato i pathway coinvolti. La rilevanza di queste scoperte emerge anche alla luce di una loro possibile futura applicazione in un contesto terapeutico; infatti, il trattamento con inibitori di STAT3 -attualmente in clinical trial- potrebbe risultare più efficace nel caso in cui fosse possibile identificare i pazienti con maggiori possibilità di rispondere al trattamento, ad esempio, i pazienti con tumori caratterizzati dall'espressione di L1CAM (PMID: 34645505 doi: 10.1186/s13046-021-02117-z).

Abbiamo dimostrato che sia le iNKT circolanti che quelle residenti nel tessuto sono citotossiche nei confronti delle cellule del tumore del colon-retto umano, fornendo per la prima volta evidenze scientifiche dell'attività citotossica delle cellule iNKT intestinali contro il tumore del colon-retto e supportando il loro utilizzo nel contesto di approcci di immunoterapia.

L'immunoterapia è sempre più spesso considerata una possibile opzione terapeutica per il trattamento del tumore del colon-retto, sulla base dell'utilizzo di differenti tipi di cellule del sistema immunitario. Le cellule iNKT (invariant natural killer T cells) murine sono coinvolte nell'immunità antitumorale nella leucemia, nel melanoma, nel polmone, nel tumore al seno, nel cancro del colon-retto. Anche le cellule iNKT umane (nello specifico, il sottotipo iNKT1) sono in grado di uccidere le cellule del tumore del colon-retto e, ad esempio, l'infiltrazione del tumore da parte delle cellule iNKT è un fattore prognostico positivo per i pazienti con tumore al colon. Le cellule iNKT sono principalmente residenti nel tessuto, ma si trovano anche nel circolo sanguigno. Mettendo in coltura cellule iNKT intestinali o circolanti con cellule del tumore del colon-retto e misurando la citotossicità, abbiamo dimostrato che entrambe uccidevano in maniera efficiente le cellule tumorali. Dato che le cellule iNKT usate nel saggio erano isolate da pazienti con malattia del colon infiammato (infiammazione cronica del tratto gastrointestinale), hanno verificato che la citotossicità delle cellule non fosse semplicemente dovuta alle loro proprietà pro-infiammatorie ma le cellule iNKT erano effettivamente in grado di distinguere tra cellule tumorali e non tumorali. Tuttavia, non tutte le linee cellulari testate hanno mostrato lo stesso grado di citotossicità: alcune cellule tumorali risultavano più sensibili alla tossicità mediata dalle iNKT. Successivamente, abbiamo analizzato i meccanismi molecolari alla base della citotossicità delle cellule iNKT: in seguito all'interazione con le

cellule del tumore del colon-retto, le cellule iNKT cambiavano l'espressione delle proteine di membrana (come TRAIL e FasL) necessarie per la loro attività citotossica. Inoltre, dopo essere state in coltura con le cellule tumorali, le iNKT rilasciavano molecole richieste per la citotossicità (come perforine e granzimi). I risultati raccolti sfruttando le linee cellulari umane di cancro del colon-retto sono stati confermati usando cellule isolate dai pazienti. I nostri studi propongono quindi sia le iNKT circolanti che quelle residenti nel tessuto come nuovi strumenti di immunoterapia contro il tumore del colon-retto, o semplicemente potenziando l'attività delle cellule iNKT che infiltrano la massa tumorale, o isolando dal sangue cellule iNKT circolanti, selezionando le più citotossiche, e trasferendole nei pazienti (PMID: 34535957 doi: 10.1002/1878-0261.13104).

Abbiamo mostrato che la proteina WDR82 forma un complesso con la proteina che lega l'RNA ZC3H4 e regola la trascrizione di lunghe molecole di RNA non codificanti (long non-coding RNA) a partire dagli enhancer e dai promotori, nello specifico controllando la precoce terminazione della trascrizione.

Gli enhancer sono regioni del DNA con un ruolo regolatorio essenziale, che giocano un ruolo critico nel regolare l'espressione genica e i processi cellulari associati, come la proliferazione, il differenziamento e diverse patologie. L'attivazione degli enhancer comporta il reclutamento della RNA polimerasi II, l'enzima responsabile della trascrizione genica, e a partire dagli enhancer vengono trascritte, a bassi livelli, molecole di RNA corte e lunghe. Tuttavia, non è chiaro il ruolo biologico degli RNA trascritti a partire dagli enhancer: da un lato, potrebbero rappresentare la conseguenza indesiderata dell'attività degli enhancer, la cui produzione è soggetta a meccanismi attivi di repressione; dall'altro, alcuni studi suggeriscono che alterazioni degli RNA generati dagli enhancer influenzino il processo di tumorigenesi nel tumore al seno, della prostata, del colon-retto. Abbiamo dimostrato che sebbene altri fattori siano coinvolti nella soppressione della trascrizione di long non-coding RNA generati a livello di enhancer e promotori, WDR82 agisce attraverso un meccanismo diverso; infatti, l'eliminazione di altri fattori normalmente coinvolti nella terminazione della trascrizione non induce lo stesso aumento della trascrizione osservato in seguito all'eliminazione di WDR82. La soppressione della trascrizione mediata da WDR82 avviene invece attraverso l'interazione con la proteina di legame all'RNA ZC3H4. L'eliminazione di ZC3H4 induce infatti un aumento della trascrizione, simile a quello osservato in seguito all'eliminazione di WDR82, dimostrando così il ruolo repressivo del complesso WDR82-ZC3H4. Il maggior numero di trascritti generati dagli enhancer in seguito all'eliminazione di WDR82 non sono successivamente processati (spliced) in maniera corretta. In particolare, una regione all'inizio del RNA nascente è critica per la soppressione della trascrizione mediata dal complesso WDR82-ZC3H4. Infatti, la rimozione del primo esone, eliminando l'elemento coinvolto nella soppressione della trascrizione mediata dal complesso WDR82-ZC3H4, determina un'augmentata produzione di RNA a partire dagli

enhancer. I nostri studi quindi suggeriscono un modello secondo cui i complessi WDR-ZC3H4 sono generalmente associati con i siti di trascrizione -probabilmente legando l'RNA Polimerasi II-, pronti ad effettuare un "controllo qualità" degli RNA generati a partire dagli enhancer. In quella posizione, ZC3H4 è in grado di riconoscere specifiche sequenze sull'RNA nascente, come ad esempio imperfezioni a livello delle regioni coinvolte nel processamento dell'RNA (siti di splicing imperfetti). Di conseguenza, un processamento inefficiente dell'RNA causerebbe la persistenza sull'RNA dei fattori coinvolti nel processamento, inducendo probabilmente il segnale di terminazione della trascrizione (PMID: 33767452 doi: 10.1038/s41594-021-00572-y).

Attraverso una collaborazione internazionale abbiamo dimostrato che in caso di infiammazione, le cellule del pancreas modificano profondamente la loro espressione genica per ridurre il danno del tessuti associato all'infiammazione. Queste modifiche, però, in presenza di mutazioni di KRAS accelerano la progressione tumorale.

Lo sviluppo del tumore è stato associato all'infiammazione, la quale è infatti in grado di promuovere la crescita tumorale. Durante la pancreatite, l'infiammazione coopera con le mutazioni oncogeniche (ovvero che promuovono il tumore) della proteina KRAS, accelerando così la progressione del tumore pancreatico. Prima di tutto abbiamo indotto farmacologicamente, in modelli murini, un'infiammazione transiente. Dopo che il processo infiammatorio si era risolto, abbiamo indotto l'espressione di KRAS mutato -per promuovere il tumore- e abbiamo osservato che i topi in cui era stata precedentemente indotta l'infiammazione sono morti di tumore prima dei controlli, suggerendo che anche un singolo evento infiammatorio induce nelle cellule pancreatiche normali delle alterazioni che le predispongono alla tumorigenesi. La minore sopravvivenza degli animali era dovuta ad alterazioni delle cellule pancreatiche stesse, piuttosto che a cambiamenti del microambiente; infatti, in coltura, le cellule pancreatiche isolate dai topi trattati per indurre infiammazione proliferavano di più rispetto alle cellule di controllo (isolate dai topi non trattati). Questo perché le cellule acquisivano la capacità di sfuggire alla senescenza (processo di invecchiamento cellulare). Quando infatti venivano ri-trapiantate in topi riceventi, davano origine a tumori aggressivi, mentre le cellule isolate da animali non trattati non davano origine a tumori. Analisi molecolari (scRNAseq) di queste cellule hanno rivelato delle alterazioni profonde nell'espressione genica, spiegando gli effetti osservati: da un lato, dei cambiamenti transienti, che si verificavano subito dopo l'infiammazione ed includevano la ridotta espressione di proteine (enzimi) coinvolte nel funzionamento del pancreas; dall'altro, un reprogramming a lungo termine, che influenzava l'espressione di geni legati alla morte cellulare, alla sopravvivenza, alla proliferazione, e i programmi di espressione genica tipici dell'embriogenesi (questi programmi sono normalmente riattivati durante la tumorigenesi). Una volta acquisite, queste alterazioni sono mantenute nella progenie delle cellule (DCLK1-

positive) che danno origine al cancro del pancreas. Nello specifico, durante l'infiammazione i macrofagi (cellule del sistema immunitario) attivati secernono la molecola infiammatoria IL6, la quale induce il reprogramming delle cellule del pancreas, che include l'aumento dell'espressione della proteina EGR1 e la tumorigenesi associata alle mutazioni di KRAS. Le risposte adattative descritte rappresentano probabilmente un meccanismo di difesa delle cellule, un modo in cui si preparano a reagire a possibili future infiammazioni per limitare il danno al pancreas. Infatti, queste risposte adattative attenuavano la risposta a successive infiammazioni. Questo perché il secondo evento infiammatorio induce un reprogramming (la cosiddetta acinar-to-ductal metaplasia, ADM) delle cellule pancreatiche (che acquisiscono delle caratteristiche diverse), che coinvolge la prolungata attivazione della signaling di MAPK. Queste cellule riprogrammate spengono la produzione di enzimi tipici del funzionamento del pancreas -che altrimenti causerebbero danno tissutale- preservando così il pancreas dal danno associato all'infiammazione. Quindi, da un lato, gli eventi che inducono un'attivazione costitutiva della signaling di MAPK -come le mutazioni oncogeniche di KRAS- hanno degli effetti positivi; dall'altro, l'espressione di mutazioni di KRAS nelle cellule riprogrammate contribuisce allo sviluppo del tumore del pancreas. Il nostro lavoro rivela quindi un nuovo ruolo per le mutazioni oncogeniche di KRAS, che rappresentano un tentativo delle cellule del tumore del pancreas di contrastare il danno tissutale durante l'infiammazione (spiegando così la diffusa presenza di mutazioni di KRAS nei tumori del pancreas), suggerendo che trattamenti farmacologici che limitano il danno del tessuto durante la pancreatite (ad esempio inducendo ADM) potrebbero salvare le cellule dalla trasformazione maligna (PMID: 34529467 doi: 10.1126/science.abj0486).

Abbiamo analizzato la funzione di BAP1, proteina del complesso PR-DUB che funziona come oncosoppressore e risulta frequentemente mutata in diversi tipi di tumore.

L'espressione genica viene infatti finemente regolata attraverso diversi meccanismi, ad esempio tramite la modificazione di proteine associate con il DNA e coinvolte nell'impacchettamento del DNA -gli istoni. L'aggiunta e la rimozione di una molecola di ubiquitina sull'istone H2A, mediate rispettivamente dai complessi proteici PRC1 e PR-DUB, sono meccanismi per controllare l'espressione genica. Con il nostro lavoro, abbiamo proposto un modello per descrivere l'attività di BAP1 in condizioni fisiologiche e patologiche. Secondo questo modello, BAP1 regola l'ubiquitinazione dell'istone H2A da parte del complesso PRC1 -che è essenziale per mantenere spenti specifici geni in momenti precisi- e, di conseguenza, influenza la metilazione dell'istone H3, il compattamento dei cromosomi e l'espressione genica. Innanzi tutto abbiamo osservato che BAP1 non necessita di PRC1 per legarsi al DNA e, anzi, legano geni diversi. Inoltre, mentre i geni legati dal complesso PRC1 erano inattivi, quelli legati da BAP1 (ovvero dal complesso PR-DUB di cui BAP1 fa parte) erano attivamente trascritti: i due complessi proteici

svolgono quindi due ruoli opposti. In assenza di BAP1 i livelli di ubiquitinazione aumentavano in maniera diffusa su tutto il genoma, in regioni non generalmente target di PRC1. La riespressione di BAP1 ristabiliva livelli normali di ubiquitinazione, suggerendo che BAP1 sia critico per evitare l'ubiquitinazione anomala e diffusa da parte di PRC1. L'assenza di BAP1 -alterando i livelli di ubiquitinazione- accendeva e spegneva diversi geni, molti dei quali erano bersagli di PRC1, suggerendo che BAP1 giochi un ruolo nel mantenere spenti i geni target di PRC1. Controllando l'ubiquitinazione da parte di PRC1, BAP1 modula anche l'attività del complesso proteico PRC2. Infatti, PRC2 lega l'istone H2A ubiquitinato da PRC1 e a sua volta aggiunge un gruppo metile all'istone H3. In assenza di BAP1 però la diffusa ubiquitinazione da parte di PRC1 allontana PRC2 dalle sue regioni target sul DNA: PRC2 si lega ad altre regioni del genoma. Di conseguenza, la diffusa metilazione mediata da PRC2 aumenta il compattamento del cromosoma, dimostrando che il ruolo di BAP1 è quello di mantenere bassi i livelli di ubiquitinazione su H2A per contrastare il generale compattamento della cromatina e consentire una corretta espressione genica. Il nostro studio fornisce quindi un link tra la perdita di BAP1 frequentemente osservata nei tumori e l'alterata espressione genica tipica dei tumori: BAP1 evita l'ubiquitinazione aspecifica e diffusa del genoma, ma quando BAP1 è assente -come avviene in diversi tumori-, l'ubiquitinazione è incontrollata e diffusa. La diffusa ubiquitinazione altera il legame di PRC2: PRC2 viene spostato via dai suoi specifici geni target ma rimane legato in maniera anomala e attivo in altre regioni del cromosoma, causando il compattamento del cromosoma e una repressione anomala dell'espressione genica (PMID: 34186021 doi: 10.1016/j.molcel.2021.06.020).

Abbiamo dimostrato, sia in vivo che in colture tridimensionali di organoidi, che la coda dell'istone H3 viene tagliata -ovvero subisce "clipping" (un modo di regolare la replicazione del DNA e la trascrizione dell'RNA, controllando la risposta delle cellule a specifici stimoli esterni)- nei villi del piccolo intestino del topo, la regione dell'intestino responsabile di massimizzare l'assorbimento di fluidi e nutrienti, controllando il differenziamento delle cellule intestinali.

Il clipping della coda dell'istone H3 avviene grazie all'azione di due proteine, Catepsina L e Tripsina. Le tripsine sono prodotte e secrete nella loro forma inattiva dal pancreas e rilasciate nell'intestino. La catepsina L è normalmente presente nelle vescicole intracellulari, ma viene anche secreta, ed è coinvolta nel turnover fisiologico delle proteine, contribuendo alla degradazione di diverse proteine extracellulari, nucleari e citoplasmatiche. Il clipping della coda dell'istone H3 mediato da tripsine e Catepsina L avviene in maniera specifica nei villi (protrusioni dell'intestino che aumentano la superficie per l'assorbimento di fluidi e nutrienti) e non è stato osservato ad esempio nelle cripte intestinali (le cripte sono invaginazioni che forniscono le cellule staminali per rinnovare l'epitelio intestinale). Abbiamo mostrato che nelle colture di organoidi, Tripsina e Catepsina L contribuiscono alla maturazione delle cellule. Le

colture di organoidi sono formate a partire dalle cellule staminali dell'intestino isolate dalle cripte che, in specifiche condizioni di coltura, formano i cosiddetti organoidi (ovvero sfere costituite da cellule intestinali), che ricapitolano la struttura del tessuto intestinale. L'inibizione di Tripsina e Catepsina L, prevenendo il clipping della coda dell'istone H₃, previene la maturazione delle cellule: gli organoidi collassano e muoiono. Il clipping è modulato da modificazioni post-traduzionali a livello della coda dell'istone: ad esempio la coda "accorciata" dell'istone H₃ presenta un arricchimento di alcune acetilazioni, in particolare quella che avviene a livello della lisina 14 (H₃K14ac) è presente solo nella forma intermedia, non sulla coda intera né sulla coda che ha subito un clipping più esteso. Nell'intestino, il fisiologico rapido rinnovo dell'epitelio intestinale adulto si basa sulla divisione, maturazione e migrazione delle cellule staminali intestinali: le cellule staminali sono localizzate nella parte bassa delle cripte, si muovono lungo i villi intestinali, differenziano e sono coinvolte nell'assorbimento di nutrienti; quando raggiungono la parte superiore dei villi, le cellule vecchie muoiono e sono rilasciate nel lume intestinale. Regolando il differenziamento delle cellule intestinali, il clipping dell'istone H₃ risulta essere uno dei meccanismi che assicurano il corretto funzionamento dell'intestino (PMID: 33398338 doi: 10.1093/nar/gkaa1228).

Abbiamo dimostrato che uno dei meccanismi che determinano la capacità delle cellule tumorali di resistere alla chemioterapia -uno degli ostacoli principali nel trattamento dei pazienti oncologici, ovvero quel meccanismo che fornisce alle cellule tumorali la capacità di sopravvivere al trattamento chemioterapico che dovrebbe ucciderle, promuovendo così la progressione tumorale- è legata ad un alterato numero di cromosomi -ovvero l'aneuploidia, una caratteristica frequentemente osservata nelle cellule tumorali-, dovuta ad errori al momento della divisione cellulare. Ciò induce, in modo casuale, cambiamenti nell'espressione di alcuni geni, fornendo alle cellule la capacità di adattarsi a condizioni ostili -come la terapia- e sopravvivere.

Meccanismi cellulari complessi assicurano che ad ogni divisione cellulare i cromosomi siano correttamente segregati nelle cellule figlie. Quando si verificano degli errori, le cellule diventano aneuploidi, ovvero possiedono un alterato numero di cromosomi. Le cellule tumorali aneuploidi sono più resistenti ai trattamenti antitumorali. Noi abbiamo determinato il modo in cui l'aneuploidia determina la resistenza al trattamento delle cellule tumorali. Innanzi tutto abbiamo aumentato farmacologicamente il livello di aneuploidia in colture di cellule tumorali di colon, polmone, pancreas e pelle. Le cellule sono state successivamente trattate con chemioterapia. L'instabilità cromosomica causata dall'aneuploidia riduce la proliferazione cellulare; tuttavia, noi abbiamo osservato che la chemioterapia aumentava la sopravvivenza e la proliferazione delle cellule aneuploidi in determinate condizioni -ovvero con trattamenti antitumorali specifici, come topotecan e vemurafenib, e in diverse linee cellulari tumorali.

Analisi successive hanno rivelato i meccanismi di resistenza al trattamento con topotecan. Sebbene le cellule aneuploidi resistenti al topotecan non mostravano alcuna sovraespressione del target del farmaco (causa frequente di chemioresistenza acquisita), mostravano la sovraespressione di BCRP, una proteina transmembrana che, nelle cellule resistenti, media attivamente l'uscita di farmaci -come topotecan- dalla cellula. Tuttavia, la sovraespressione della proteina BCRP nelle cellule aneuploidi chemioresistenti non era dovuta all'amplificazione della regione del cromosoma che comprendeva il gene BCRP, ma all'aumentata espressione di un altro gene localizzato su un diverso cromosoma. Quindi, l'aneuploidia causa instabilità cromosomica, con conseguente alterazione di alcuni geni e acquisizione da parte delle cellule di diverse caratteristiche. Alcune di queste caratteristiche rendono le cellule più adatte a sopravvivere in condizioni ostili indotte dalla chemioterapia (es aumentando l'attività delle proteine che mediano la fuoriuscita dei farmaci), rendendo le cellule chemioresistenti e consentendone la proliferazione. Attualmente, alcuni studi clinici si basano sull'induzione dell'aneuploidia e dell'instabilità cromosomica -dato che aumentata aneuploidia e instabilità genomica rallentano la proliferazione-; tuttavia, il nostro studio suggerisce che questo approccio potrebbe in certi casi promuovere la sopravvivenza delle cellule tumorali e la chemioresistenza, suggerendo un'attenzione ulteriore nella selezione dei pazienti per questi approcci terapeutici (PMID: 34352223 doi: 10.1016/j.devcel.2021.07.006). Abbiamo mostrato che le cellule aneuploidi attivano il pathway di NF- κ B che le rende suscettibili all'eliminazione da parte del sistema immunitario (nello specifico dalle cellule NK). Bloccando l'attivazione del pathway di NF- κ B si previene la rimozione delle cellule aneuploidi da parte delle cellule NK. Inoltre, le cellule tumorali altamente aneuploidi attivano anch'esse il pathway di NF- κ B.

Le cellule aneuploidi proliferano più lentamente delle cellule normali; nell'organismo, un numero atipico di cromosomi ha generalmente conseguenze letali allo stadio prenatale e, in caso di sopravvivenza, può causare gravi anomalie dello sviluppo. L'aneuploidia è una caratteristica dei tumori. Infatti, la stragrande maggioranza dei tumori è caratterizzata da un numero atipico di cromosomi. Una grave aneuploidia delle cellule tumorali è spesso associata ad una prognosi infausta. Tuttavia in qualche modo le cellule aneuploidi acquisiscono quel vantaggio proliferativo che le contraddistingue nei confronti delle cellule normali, permettendole di duplicare in maniera incontrollata e diventare tumorigeniche. Noi abbiamo osservato che in coltura le cellule NK eliminavano in maniera più efficiente le cellule aneuploidi rispetto alle cellule normali di controllo. La rimozione delle cellule aneuploidi da parte delle cellule NK era indotta da diversi fattori secreti dalle cellule aneuploidi; infatti, aggiungendo il mezzo di coltura delle cellule aneuploidi alle cellule normali si potenziava notevolmente la tossicità delle cellule NK nei confronti delle cellule normali. Tuttavia, anche in queste condizioni le cellule NK non erano altrettanto efficienti nella rimozione delle cellule normali come di quelle aneuploidi, suggerendo che siano necessari fattori

aggiuntivi espressi sulla superficie delle cellule aneuploidi perché queste siano pienamente efficienti. Diversi pathway intracellulari erano attivati nelle cellule aneuploidi -inclusi la signalling di TNFalfa e NF-kB, i pathway di JAK-STAT e dell'interleuchina, la risposta da interferone alfa e gamma, la cascata del complemento-, ma il pathway di NF-kB giocava un ruolo critico nella rimozione delle cellule aneuploidi da parte delle cellule NK. Infatti, eliminando i fattori coinvolti nell'attivazione di NF-kB (fattori sia del pathway di attivazione canonico che non canonico), o il trattamento con specifici inibitori di NF-kB, si riduceva significativamente l'efficienza delle cellule NK, raggiungendo gli stessi livelli di tossicità delle cellule NK verso le cellule normali. Il pathway JAK-STAT, invece, pur potenziando il riconoscimento delle cellule aneuploidi da parte delle cellule NK, non era sufficiente per se ad indurre la rimozione delle cellule aneuploidi da parte delle cellule NK. Inoltre, abbiamo mostrato che, analogamente alle cellule aneuploidi non maligne, le cellule aneuploidi tumorali attivano il pathway di NF-kB. Tuttavia, ciò non è sufficiente ad indurre l'eliminazione delle cellule tumorali aneuploidi da parte delle cellule NK, suggerendo che altre signaling attivate in maniera anomala nelle cellule tumorali potrebbero sopprimere quella indotta da aneuploidia e mediata da NF-kB, proteggendo le cellule tumorali aneuploidi dal sistema immunitario. La combinazione di stress proteotossico, ossidativo e genotossico generalmente presenti nelle cellule aneuploidi rappresenta probabilmente la causa principale della rimozione delle cellule aneuploidi da parte delle cellule NK. Ulteriori studi in futuro consentiranno di approfondire questi aspetti (PMID: 34105235 doi: 10.15252/embr.202052032).

Abbiamo caratterizzato i complessi proteici formati dagli omologhi di TNF e dei suoi recettori in *Drosophila*, ovvero i complessi formati dalle proteine Egr/Grnd e Egr/Wgn.

Il TNF (tumor necrosis factor) è una molecola che, legandosi al proprio recettore, media diversi processi cellulari: da un lato, è coinvolta nella risposta immunitaria, dall'altro, gioca un ruolo in diversi contesti patologici, come le malattie infiammatorie e i tumori. Il ruolo di TNF nei tumori è complesso; concentrazioni di TNF alte o basse sembrano infatti avere effetti opposti sulla crescita tumorale: se da un lato diversi studi suggeriscono che concentrazioni elevate di TNF inibiscano la crescita tumorale, basse concentrazioni potrebbero contribuire alla progressione tumorale. Per questa ragione, diversi studi tendono a sfruttare l'equilibrio tra concentrazioni alte e basse di TNF per promuovere il ruolo antitumorale e aumentare l'efficacia delle terapie antitumorali, soprattutto l'immunoterapia. Nei mammiferi esistono 19 diverse molecole di TNF e 29 recettori. Alcuni TNF possono attivare diversi recettori, inducendo risposte cellulari differenti e a volte opposte, rendendo così complesso lo studio dei processi associati. In seguito al legame di TNF al suo recettore, si generano infatti signalling intracellulari che possono indurre o la proliferazione o la morte cellulare. La *Drosophila*, modello spesso utilizzato nella ricerca biomedica, ha un sistema TNF/recettore molto più semplice, dal momento che, a

differenza delle 48 molecole –tra recettori e ligandi– presenti nei mammiferi, ha un solo ligando, Egr, e due recettori, Grnd e Wgn, offrendo così un modello eccellente e semplificato per analizzare i meccanismi di attivazione della cascata trasduzionale attivata dal ligando TNF dal punto di vista molecolare. Inoltre, abbiamo mostrato che i due complessi proteici sono localizzati in diversi compartimenti cellulari, suggerendo il loro coinvolgimento in processi cellulari differenti. In particolare, abbiamo dimostrato che Egr può interagire direttamente sia con Grnd che con Wgn, sebbene con diversa affinità. Nello specifico, trimeri di Egr (del suo dominio extracellulare) possono interagire con Grnd (nello specifico con il suo dominio ricco di cisteine) andando a formare dei complessi proteici con una maggiore affinità rispetto a quelli che vengono a formarsi con Wgn. Ciò suggerisce che l'interazione di Egr con uno dei due recettori potrebbe dipendere dalla concentrazione di Egr stesso: in caso di basse concentrazioni, Egr si legherebbe al recettore con maggiore affinità, non riuscendo a formare complessi con il recettore con cui ha bassa affinità. Abbiamo determinato la struttura cristallografica di Grnd da solo e associato ad Egr (così da visualizzarne la struttura tridimensionale su scala molecolare) e abbiamo identificato i residui aminoacidici chiave coinvolti nella formazione del complesso proteico. Mutazioni in questi residui aboliscono il legame delle due proteine e prevengono la morte cellulare indotta da Egr. Infine, abbiamo mostrato che Grnd e Wgn sono localizzati in diversi compartimenti cellulari e rispondono in maniera diversa ad Egr. In particolare, l'attivazione della signaling di Egr che induce la morte cellulare richiede l'internalizzazione del complesso Egr/Grnd in vescicole intracellulari (PMID: 33824334 doi: 10.1038/s41467-021-22080-9).

Abbiamo identificato il ruolo critico delle proteine TPX2 e Aurora-A nella divisione cellulare, attraverso la regolazione dell'orientamento del fuso mitotico, ovvero la struttura responsabile di segregare i cromosomi durante la divisione cellulare.

La divisione cellulare avviene secondo un piano preciso rispetto al tessuto di cui fanno parte le cellule e un alterato orientamento dell'asse di divisione potrebbe indurre una crescita incontrollata delle cellule e la disorganizzazione dei tessuti, causando così diverse patologie, tra cui il cancro. La corretta divisione cellulare si basa sul corretto orientamento del fuso mitotico, il quale richiede l'azione combinata di proteine del complesso NuMA/LGN/Gai. La localizzazione di NuMA (critica per la sua attività a livello del fuso mitotico) è controllata da specifiche proteine; tra queste, Aurora-A. Aurora-A a sua volta è attivata da una proteina chiamata TPX2. Usando colture cellulari di tumore al seno, abbiamo dimostrato che l'assenza di TPX2 e Aurora-A determina l'alterazione dell'asse del fuso mitotico. Inoltre, Aurora-A necessita dell'interazione diretta con TPX2 ed entrambe le proteine fanno parte di un complesso proteico insieme alla proteina NuMA. Il ruolo di TPX2 non è limitato all'attivazione di Aurora-A, ma agisce anche favorendo l'interazione tra Aurora-A e NuMA. La sovraespressione di Aurora-A e TPX2 è frequentemente

osservata nelle cellule del tumore al seno e i nostri esperimenti hanno dimostrato che la sovraespressione di TPX2 e Aurora-A causa l'instabilità dei microtubuli (i microtubuli sono i filamenti che costituiscono il fuso mitotico), influenzando quindi l'orientamento del fuso mitotico, ma in modi diversi: la sovraespressione di TPX2 determina un migliore allineamento del fuso mitotico rispetto al substrato in confronto alle cellule di controllo, mentre la sovraespressione di Aurora-A induce un errato orientamento del fuso mitotico (PMID: 33275894 DOI: 10.1016/j.cub.2020.10.096).

Abbiamo dimostrato la rilevanza del miRNA miR-146 per l'attività delle cellule staminali (SCs) e delle cellule staminali tumorali (CSCs).

Ad oggi, sebbene sia noto che la sovraespressione ectopica dei miRNA ha un effetto sulle le SC e le CSC, la loro rilevanza dal punto di vista fisiologico rimane poco nota. In particolare, l'espressione di miR-146a/b è elevata nelle SC e nelle CSC isolate da tessuti mammari primari umani e murini, correla con il sottotipo di tumore al seno di tipo basale, che ha tipicamente un elevato contenuto di CSC, e distingue in maniera specifica le cellule con identità staminale/tumorale staminale. La perdita di miR-146 in vitro riduce la capacità di self-renewal delle SC/CSC; in vivo, compromette la crescita tumorale di patient-derived xenograft, riducendo il numero di cellule inizianti il tumore, supportando così la sua funzione oncogenica. Analisi trascrizionali in cellule mammarie simil-staminali hanno rivelato che miR-146 ha effetti pleiotropici, riducendo i meccanismi di risposta adattativa e attivando l'uscita delle cellule dallo stato di quiescenza, attraverso un complesso network, finemente regolato, di miRNA target associati alla quiescenza, trascrizione e metabolismo del carbonio. Coerentemente, SC/CSCs mostrano resistenza innata a chemioterapia anti-folato sia in vitro che in vivo che può essere invertita eliminando i miR-146, esponendo una "vulnerabilità nascosta" sfruttabile per lo sviluppo di terapie contro le CSCs. PMID: 33819341 DOI: 10.1083/jcb.202009053

Abbiamo dimostrato il ruolo del long non-coding RNA—una lunga molecola di RNA— TINCR nella disseminazione metastatica del melanoma. In particolare, TINCR è in grado di sopprimere le capacità invasive delle cellule di melanoma.

Il melanoma cutaneo è la forma più aggressiva di tumore della pelle a causa della particolare propensione delle cellule di melanoma ad invadere i tessuti circostanti e migrare —sviluppando metastasi in organi distanti— e ad acquisire rapidamente resistenza alla terapia farmacologica nella maggior parte dei pazienti. Questo tumore è particolarmente eterogeneo, composto principalmente da due sottopopolazioni cellulari in grado di interconvertirsi una nell'altra, una sottopopolazione costituita prevalentemente da cellule altamente proliferanti ed una sottopopolazione di cellule prevalentemente indifferenziate, dotate di capacità invasive. Le caratteristiche che distinguono le due sottopopolazioni sono indipendenti dalle specifiche mutazioni geniche responsabili dell'insorgenza del tumore. Le cellule di melanoma hanno la

capacità di passare da uno stato all'altro in risposta a diversi stimoli da parte del microambiente. Questa abilità viene definita "plasticità". Si suppone che la capacità di formare metastasi, così come la resistenza ai farmaci, sia una conseguenza della capacità delle cellule del melanoma di adattarsi ai segnali provenienti dal microambiente, ovvero della loro plasticità. Nello stato proliferativo, infatti, le cellule sostengono la crescita del tumore mentre quando passano allo stato invasivo acquisiscono la capacità di migrare e formare metastasi; infine, tornando nuovamente nello stadio proliferativo, consentono la crescita delle metastasi. La plasticità delle cellule di melanoma di passare da uno stato all'altro suggerisce che ri-settare le cellule tumorali impedendo che acquisiscano la capacità di invadere i tessuti circostanti possa arrestare la disseminazione metastatica. Tuttavia, per far ciò è necessario comprendere i meccanismi coinvolti, per poter interferire. I long non-coding RNA sono delle lunghe molecole di RNA, di oltre 200 nucleotidi, che non codificano per proteine, ma hanno un ruolo in diversi processi fisiologici della cellula. Sono anche stati descritti livelli alterati di long non-coding RNA nel processo di tumorigenesi. Abbiamo osservato che il long non-coding RNA TINCR è poco espresso nei melanomi metastatici e che la riduzione della sua espressione in linee di melanoma "proliferanti" determina l'aumentata espressione di marcatori tipici delle cellule tumorali indifferenziate/invasive e marcatori di resistenza a specifici farmaci generalmente utilizzati nel trattamento del melanoma, come gli inibitori di BRAF e MEK. Analogamente, la ri-espressione di TINCR nelle cellule del melanoma metastatico riduce la capacità delle cellule di invadere i tessuti circostanti, limitando così la formazione di metastasi, ed aumenta la sensibilità ai farmaci, senza alcun effetto sulla proliferazione cellulare. Ciò avviene perché TINCR interagisce con un particolare gruppo di mRNA tipicamente presenti nelle cellule indifferenziate/invasive, prevenendo la loro traduzione in proteine da parte del ribosoma. Tra i vari mRNA –e quindi proteine– down regolati, c'è quello di ATF4, una proteina che gioca un ruolo chiave nella risposta allo stress cellulare (PMID: 33586907 DOI: 10.15252/embr.202050852).

Abbiamo sviluppato un approccio di proteomica quantitativa per profilare i cambiamenti globali dell'interazione tra l'RNA e le proteine che legano l'RNA (RNA binding proteins, RBPs) in seguito alla modulazione delle PRMT di tipo I e II.

Le RBPs legano l'RNA attraverso specifici domini di legame all'RNA, generando complessi multimolecolari noti come ribonucleoproteine (RNPs). Varie modificazioni post traduzionali (PTMs) sono state descritte regolare la struttura delle RBP, la localizzazione subcellulare, e le interazioni con altre proteine o RNA. Esperimenti recenti hanno mostrato che le RBPs sono il gruppo più rappresentativo tra le proteine metilate a livello dei residui di arginina. Inoltre, evidenze recenti suggeriscono che questa modificazione giochi un ruolo nella regolazione dell'interazione RBP-RNA. Tuttavia ad oggi non è stata ancora effettuata un'analisi sistematica di come i cambiamenti nella metilazione possano influenzare le interazioni

RBP/RNA a livello globale. Accoppiando la strategia di Orthogonal Organic Phase Separation (OOPS) con Isotope Labelling with Amino acids in Cell culture (SILAC) e la modulazione farmacologica delle PRMTs, abbiamo profilato la dinamica dell'interazione RNA-proteina dipendente dalla metilazione (PMID: 34557518 DOI: 10.3389/fmolb.2021.688973).

Nuovi approcci tecnologici.

Partendo da risultati precedentemente pubblicati che descrivono un approccio tecnico per analizzare sezioni di tessuto molto piccole, abbiamo messo a punto un nuovo metodo per l'analisi basata su spettrometria di massa di modifiche post-traduzionali (PTM) degli istoni in campioni ancora più piccoli, contenenti fino a 1.000 cellule, ovvero campioni la cui dimensione è paragonabile alle dimensioni dei campioni clinici comunemente disponibili.

I meccanismi epigenetici -come l'alterazione di modifiche post-traduzionali, PTM- sono coinvolti in diverse patologie, incluso il cancro. Ad esempio, le PTM sono coinvolte nella transizione epitelio-mesenchimale, un processo in cui attraverso una serie di cambiamenti fenotipici, le cellule tumorali acquisiscono proprietà migratorie e la capacità di invadere i tessuti circostanti e formare metastasi. Gli enzimi responsabili delle PTM degli istoni (le proteine coinvolte nell'impacchettamento del DNA) sono frequentemente mutati nei tumori e inibitori di questi enzimi sono attualmente studiati -e molti di questi approvati- per l'uso nell'uomo. I meccanismi che implicano gli enzimi responsabili delle PTM nella progressione tumorale non sono però completamente noti e una più profonda comprensione di questi meccanismi può permettere l'identificazione di nuovi target terapeutici e marcatori di malattia. L'analisi basata su spettrometria di massa di campioni clinici include diverse fasi successive, tra cui la dissezione del campione di tessuto, l'omogeneizzazione del tessuto, la corsa del campione su gel, la digestione dell'estratto proteico e l'analisi tramite spettrometria di massa. Noi abbiamo semplificato e ottimizzato lo step di digestione su gel al fine di ridurre la perdita di materiale, massimizzando la resa. Il metodo ha dato buoni risultati sia in campioni congelati che in tessuti paraffinati (metodo frequentemente impiegato per la conservazione di tessuti di pazienti utilizzati per analisi retrospettive). Il protocollo è stato validato in sezioni di tessuto pancreatico murino contenenti fino a 1.000 cellule e successivamente applicato su tessuti di pazienti con tumore al seno del sottotipo Luminal A, consentendo di discriminare aree tumorali e non tumorali: abbiamo identificato, nelle regioni tumorali, marcatori epigenetici di neoplasia comuni (come una ridotta acetilazione degli istoni H₃ e H₄ e ridotta trimetilazione dell'istone H₄) e nuovi (iper-acetilazione della coda dell'istone H₄) in grado di definire aree diverse all'interno della stessa lesione tumorale. Inoltre, applicando questo approccio in sezioni da pazienti con tumore al seno triplo-negativo, siamo stati in grado di distinguere sulla base di marcatori epigenetici (come ridotta

trimetilazione dell'istone H4, aumentata acetilazione dell'istone H4, e aumento delle forme non modificate degli istoni H3 e H4) regioni contenenti cellule tumorali, linfociti infiltranti il tumore, o linfociti distanti. La combinazione di questo approccio con quello precedentemente sviluppato per quantificare varianti dell'istone H1 da piccole (contenenti 1.000 cellule) sezioni di tessuto potrebbe offrire una descrizione approfondita delle caratteristiche genetiche delle lesioni tumorali precoci e delle micrometastasi, e fornire uno strumento adatto per definire l'eterogeneità tumorale, offrendo potenziali nuovi target terapeutici (PMID: 34315505 doi: 10.1186/s13148-021-01120-7).

Abbiamo implementato uno strumento computazionale (un algoritmo) basato su machine learning che, classificando accuratamente varianti genetiche la cui rilevanza clinica non è nota come patogeniche o no, supporta i clinici nelle decisioni sulla gestione dei pazienti. Lo strumento si chiama RENOVO.

Lo sviluppo di nuove tecnologie genomiche ha rivoluzionato l'approccio alla malattia e al trattamento, consentendo lo sviluppo di nuovi approcci diagnostici e terapeutici. Le tecniche di sequenziamento di ultima generazione consentono di identificare varianti genetiche potenzialmente pericolose e guidare i clinici nel decidere se iniziare un paziente al trattamento o semplicemente mantenerlo sotto monitoraggio stretto, oppure consigliare ad un paziente di iniziare uno screening genetico familiare. Un aspetto critico nella gestione del paziente sulla base dell'informazione genetica è l'interpretazione delle varianti, ovvero valutare se una variante genetica è patogena o benigna. Al fine di aiutare i clinici, nel 2014 è stato creato un database (ClinVar), disponibile per tutti, aggiornato mensilmente, che riporta per ogni variante l'informazione disponibile sulla loro patogenicità, ovvero se aumenta il rischio di sviluppare una certa malattia. Tuttavia, da un lato, spesso le informazioni contenute in questo database sono discordanti, ovvero mentre alcune fonti affermano che una data variante è patogena, altre fonti riportano la sua non-patogenicità, complicando così il lavoro dei clinici. Dall'altro lato, nuove varianti genetiche sono continuamente identificate, ma spesso non ci sono informazioni disponibili riguardo al loro effettivo ruolo nella malattia. RENOVO assegna un punteggio ad ogni variante genetica; questo punteggio riflette la probabilità che questa data variante sia patogena (un punteggio più alto significa una probabilità più alta che sia patogena). RENOVO funziona sulla base di "features" selezionate, ovvero informazioni disponibili associate ad ogni variante. Sfruttando questo strumento gli autori sono stati in grado di riclassificare circa il 70% delle varianti la cui rilevanza clinica attualmente non è nota, definendo la probabilità che siano o no patogeniche. Rispetto ad altri strumenti computazionali esistenti per la classificazione delle varianti genetiche in patogeniche o no, RENOVO si è dimostrato molto più efficiente (PMID: 33761318 doi: 10.1016/j.ajhg.2021.03.010).

Abbiamo sviluppato uno strumento computazionale in grado di identificare regioni metilate del DNA responsabili dell'insorgenza del cancro, distinguendole da quelle che emergono semplicemente come conseguenza delle proprietà genomiche ed epigenetiche delle regioni del DNA in cui risiedono.

L'espressione genica è finemente controllata da diversi fattori e le modificazioni chimiche –ovvero epigenetiche– del DNA e delle proteine coinvolte nell'impacchettamento del DNA nel nucleo (istoni) rivestono un ruolo critico. Queste modificazioni includono la metilazione del DNA.

Il profilo di metilazione del DNA è profondamente alterato nelle cellule tumorali. Alcune di queste alterazioni emergono molto precocemente, spesso persino prima che abbia inizio il processo di trasformazione maligna. La metilazione del DNA reprime l'espressione genica e, nei tumori, la metilazione del DNA spesso reprime l'espressione di geni comunemente coinvolti nella soppressione della tumorigenesi, promuovendo quindi l'insorgenza del cancro.

Tra le numerose alterazioni della metilazione del DNA frequentemente riscontrate nei tumori, alcune sono probabilmente responsabili di indurre la trasformazione maligna ed altre probabilmente un semplice evento accidentale dovuto alla progressione tumorale (ed analoghe alle mutazioni passeggero negli studi di genomica dei tumori).

MethylDriver paragona tessuti normali e tumorali ma, diversamente da altri strumenti esistenti, esclude dall'analisi eventi di metilazione che avvengano più frequentemente a livello di specifiche regioni semplicemente per via di particolari caratteristiche del DNA che favoriscono la metilazione: molte alterazioni possono essere ampiamente predette dalle proprietà epigenetiche della cellula normale e sono quindi "attese". Escludendo queste regioni dall'analisi, MethylDriver è in grado di identificare quegli eventi di metilazione che sono "inattesi", ovvero quelli che non possono essere predetti dalla proprietà epigenetiche delle cellule normali. Applicando questo strumento a set di dati disponibili, gli autori hanno identificato diversi geni che erano metilati in maniera diversa nelle cellule tumorali rispetto alle cellule normali e responsabili di indurre il tumore. Hanno successivamente confrontato MethylDriver con altri strumenti esistenti e i risultati ottenuti differivano significativamente: MethylDriver era infatti anche "più sensibile", ovvero in grado di identificare quelle regioni considerate non significative da altri strumenti e rimuove un gran numero di probabili eventi di metilazione driver di tumorigenesi falsi positivi.

Dato che la metilazione reprime l'espressione genica, una volta rimossi dall'analisi i geni metilati non associati ai tumori, le rimanenti regioni ipermetilate corrispondevano ai geni meno espressi e, viceversa, le regioni ipometilate corrispondevano ai geni più espressi, supportando fortemente la rilevanza biologica delle nostre scoperte. È interessante sottolineare che abbiamo riscontrato un'elevata variabilità negli eventi di metilazione che inducono la tumorigenesi in regioni diverse del tumore ed in alcuni tipi

di tumore rispetto ad altri. Abbiamo inoltre osservato che i geni ipometilati –e quindi attivati– nei campioni tumorali erano principalmente coinvolti nella regolazione del sistema immunitario, mentre quelli ipermetilati –e quindi repressi– erano coinvolti nel metabolismo cellulare, nella replicazione del DNA e nella trascrizione. Nel tumore della prostata, abbiamo identificato una peculiarità, ovvero l'ipermetilazione (repressione) di geni della famiglia GST. Le proteine della famiglia GST normalmente giocano un ruolo nel proteggere le cellule dal danno al DNA, prevenendo così l'accumulo di mutazioni. Tuttavia, nel tumore della prostata, l'ipermetilazione e la conseguente repressione dei geni della famiglia GST potrebbe determinare l'aumento del danno al DNA e di conseguenza favorire l'emergere di mutazioni (un maggiore tumor mutational burden), incluse mutazioni in geni che inducono il cancro, promuovendo così la crescita del tumore. Quindi, abbiamo sviluppato un nuovo strumento bioinformatico che per la prima volta prende in considerazione nell'analisi (ed esclude) i fattori non associati al tumore (ovvero quelli semplicemente collegati a caratteristiche del DNA delle cellule normali) che influenzano la metilazione, consentendo così di predire quelle che di fatto inducono il tumore. Questo strumento ha consentito di identificare alcuni geni che potrebbero essere implicati nella biologia dei tumori ed allo stesso tempo di sottolineare il ruolo chiave dell'epigenetica nel processo di tumorigenesi (PMID 34871444 doi: 10.1093/nar/gkab1167).

Abbiamo sviluppato TMBelR, uno strumento bioinformatico in grado di stimare il tumor mutational burden (TMB).

La risposta dei pazienti oncologici al trattamento con immunoterapia varia notevolmente da paziente a paziente e questa variabilità dipende da diversi fattori. La quantità di mutazioni che caratterizza un tumore è chiamata "tumor mutational burden, TMB" ed è spesso sfruttata per predire la risposta dei pazienti ad immunoterapia. Un elevato numero di mutazioni in un tumore aumenta la probabilità che queste mutazioni determinino la formazione di proteine alterate. Queste proteine alterate sono chiamate neoantigeni, sono riconosciute dal sistema immunitario come qualcosa di estraneo, da eliminare, ed attivano quindi la risposta immunitaria. Stimare il TMB può quindi rivelarsi estremamente utile in ambito clinico. A questo scopo sono stati sviluppati dei pannelli genici basati su next-generation sequencing per sequenziare specifiche regioni del DNA del paziente e verificare la presenza di mutazioni rilevanti dal punto di vista clinico. TMBelR fornisce ai clinici uno strumento valido ed un workflow analitico per valutare la probabilità che un paziente risponda al trattamento con immunoterapia, e di conseguenza decidere se indirizzarlo verso questo tipo di trattamento. TMBelR stima il TMB a partire dai dati ottenuti dal sequenziamento dei campioni dei pazienti. Dato che la comunità scientifica non ha raggiunto un chiaro standard per la quantificazione del TMB, TMBelR consente all'utilizzatore di scegliere quali parametri considerare nell'analisi, come ad esempio il tipo di mutazione (sinonime, non sinonime,

frameshift, mutazioni nonsense, driver), e affinare la stima. Alcuni di questi parametri possono essere inclusi ed altri esclusi, a discrezione dell'utilizzatore. Considerando alternativamente nell'analisi alcuni di questi parametri piuttosto che altri, l'utilizzatore può valutare l'effetto che ognuno di questi ha sulla quantificazione del TMB. In parallelo, TMBelR ha un "modulo di simulazione" che usa dataset esistenti derivanti dal sequenziamento di campioni di pazienti per simulare la quantificazione del TMB e valutare l'accuratezza dello strumento nell'effettuare la quantificazione e nel predire l'esito clinico. In pratica, TMBelR consente di affinare la stima del TMB basata sul pannello genico diagnostico a scelta e ottimizzare l'identificazione di responder e non-responder. TMBelR rappresenta uno strumento estremamente utile per i clinici, offrendo un valido supporto nel decidere se sottoporre o meno un paziente a trattamento immunoterapico, sulla base di un razionale biologico ed un parametro misurabile: il TMB (PMID: 34927668 DOI: 10.1093/bioinformatics/btab836).

In collaborazione con ricercatori del CRG di Barcellona, abbiamo messo a punto uno strumento bioinformatico in grado di quantificare lo splicing dei microesoni a partire da dati di sequenziamento (ovvero quantificando i microesoni presenti nei dati di RNAseq riportati nel database TCGA).

Alterazioni dell'espressione genica e dei meccanismi fisiologici associati sono cruciali per l'insorgenza e la progressione del tumore. Lo splicing dell'RNA è il processamento di una molecola di pre-RNA in RNA maturo, con la rimozione di regioni non codificanti (gli introni) e la fusione delle regioni codificanti (gli esoni) in una molecola di RNA maturo. Tramite splicing alternativo, durante il processamento dell'RNA, alcuni esoni non sono inseriti nella molecola di RNA maturo finale, determinando così l'espressione di una isoforma della proteina leggermente diversa. Lo splicing dei microesoni, di una lunghezza compresa tra 3 e 26 nucleotidi, è generalmente mediato da fattori di splicing specializzati, come la proteina SRRM4 (SF Serine/Arginine Repetitive Matrix 4, nota anche come nSR100). SRRM4 gioca un ruolo critico nel differenziamento neuronale e sono stati osservati livelli di espressione molto bassi nel cervello di alcuni pazienti autistici. Lo splicing è frequentemente disregolato nei tumori, a causa dell'alterata espressione delle proteine coinvolte: i fattori di splicing. Tuttavia, per quanto riguarda lo splicing dei microesoni nei tumori, le nostre conoscenze in proposito sono piuttosto scarse dato che, a causa delle loro ridotte dimensioni, l'analisi dei microesoni richiede strumenti bioinformatici ad hoc. I nostri risultati hanno mostrato una ridotta espressione del fattore di splicing SRRM4 in nove diversi tessuti tumorali (testa-collo, tiroide, seno, polmone, fegato, colon-retto, prostata, rene, utero) rispetto alla controparte normale; la ridotta espressione di SRRM4 a sua volta diminuiva lo splicing dei microesoni ed era associata al silenziamento del gene SRRM4 causato dall'aumentata metilazione del suo promotore. In particolare, le analisi dei dati hanno mostrato che bassi livelli di espressione di SRRM4 corrispondevano ad una elevata proliferazione delle cellule tumorali (misurata sfruttando il "mitotic

index", ovvero una firma molecolare della proliferazione cellulare derivata sulla base dell'espressione di marcatori di proliferazione), mentre una più elevata espressione di SRRM4 correlava con una ridotta proliferazione (basso mitotic index). In accordo con quest'analisi, inducendo la sovraespressione di SRRM4 -che corrispondeva a un aumento dello splicing dei microesoni- veniva inibita la proliferazione, sia in linee cellulari che in xenotrapianti in topi, mentre la versione mutata inattiva di SRRM4 non aveva alcun effetto. Inoltre l'induzione di SRRM4 induceva nelle cellule un aumento dell'espressione di geni neuronali specifici, sia in vitro che in vivo. Quindi, sfruttando uno strumento bioinformatico sviluppato ad hoc, abbiamo mostrato che SRRM4 inibisce la proliferazione cellulare e promuove il differenziamento, così quando le cellule tumorali down-regolano la sua espressione, ottengono un vantaggio proliferativo. Questo meccanismo è stato dimostrato in diversi tipi di tessuto, offrendo potenziali opportunità terapeutiche in diversi tipi di tumore (PMID: 33621242 doi: 10.1371/journal.pbio.3001138).

Abbiamo messo a punto un approccio bioinformatico -XenoCell- per aiutare i ricercatori nell'analisi dei dati di sequenziamento su singola cellula su patient-derived xenografts (PDX), separando in maniera efficiente le sequenze provenienti dalle cellule trapiantate da quelle provenienti dalle cellule ospite.

I patient derived xenografts (PDX) sono modelli sperimentali sempre più usati nell'ambito della ricerca sui tumori. In pratica, tessuti o cellule del tumore di un paziente vengono impiantati in un topo e lasciati crescere, simulando la biologia dei tumori umani. È stato dimostrato che i PDX ricapitolano molti tratti dei tumori, come l'eterogeneità tumorale. Gli approcci per il sequenziamento su singola cellula sono frequentemente impiegati per definire l'eterogeneità dei tumori umani ricapitolata nei PDX; ad esempio, per descrivere le caratteristiche -come il profilo di espressione genica- delle cellule tumorali trapiantate nel topo tramite sequenziamento dell'RNA su singola cellula. Tuttavia, l'analisi dei dati di esperimenti su PDX può essere complessa. Infatti, nonostante l'accuratezza dei metodi biologici -come la citometria a flusso- per isolare in maniera specifica le cellule umane trapiantate dalle cellule murine dell'ospite, cellule contaminanti dell'ospite sono spesso presenti nel campione. In un tipico esperimento di sequenziamento su singola cellula, le cellule sono marcate con brevi sequenze nucleotidiche uniche chiamate barcode (letteralmente, codice a barre). Dopo il sequenziamento, il barcode consente di associare ogni acido nucleico (RNA, DNA) alla cellula da cui deriva. Per distinguere le sequenze derivanti da una cellula trapiantata da quelle di una cellula ospite, XenoCell lavora su file in formato FASTQ appaiati (ovvero file di testo contenenti le sequenze nucleotidiche) generati dal sequenziamento: un file FASTQ contenente le sequenze e un altro file FASTQ contenente il barcode corrispondente. Innanzi tutto, sfruttando lo strumento computazionale Xenome, XenoCell classifica le sequenze (o "reads") definendo se sono specifiche del trapianto o dell'ospite. Poi assegna ogni read al suo specifico barcode (per identificare le cellule da cui derivano). Successivamente, sulla base di valori soglia che possono essere

definiti dall'utilizzatore, XenoCell estrae i barcode – e le corrispondenti sequenze di interesse – specifici delle cellule trapiantate. I dati sono ora pronti per tutte le analisi bioinformatiche standard. XenoCell funziona con ogni combinazione di organismo ospite e organismo di origine delle cellule trapiantate, non solo umano/murino, consentendo di analizzare i dati separatamente. Abbiamo validato XenoCell utilizzando dataset di esperimenti su singola cellula pubblicamente disponibili e i risultati erano coerenti con quelli ottenuti utilizzando una funzione simile di Cell Ranger, uno strumento comunemente impiegato nelle analisi di esperimenti su singola cellula. Tuttavia, diversamente da Cell Ranger, che consente la stessa classificazione di XenoCell ma è limitato all'analisi di dati di sequenziamento dell'RNA su singola cellula ottenuti con la piattaforma 10X Genomics, XenoCell è compatibile con diverse tecnologie. Inoltre, consentendo all'utilizzatore di specificare i valori soglia per la classificazione, XenoCell è totalmente adattabile alla specifica domanda biologica. Infine, lo strumento è totalmente flessibile per le analisi successive, dato che i file di input e output sono in formato FASTQ. Nonostante l'accuratezza dei metodi biologici per purificare le cellule trapiantate da quelle dell'ospite, cellule contaminanti sono spesso presenti e il pre-processing computazionale con strumenti come XenoCell in esperimenti di sequenziamento su singola cellula da PDX potrebbe migliorare notevolmente la separazione di cellule da diversi organismi (PMID: 33514375 doi: 10.1186/s12920-021-00872-8).

Abbiamo messo a punto un protocollo per la generazione di modelli di PDX di AML per monitorare la cinetica di proliferazione cellulare in vivo, alla risoluzione di singola cellula.

L'eterogeneità funzionale e genetica intratumorale nella AML è considerata un fattore importante nella recidiva della malattia e nella resistenza alla chemioterapia. I modelli PDX conservano caratteristiche importanti del tumore originale, consentendo, allo stesso tempo, la manipolazione sperimentale e l'amplificazione in vivo delle cellule umane. Sebbene i protocolli sperimentali per gli studi sulla proliferazione cellulare siano consolidati e diffusi, non sono facilmente applicabili in contesti in vivo e l'analisi dei dati associati nel tempo è spesso complessa da ottenere. Per superare queste limitazioni, approcci diversi possono essere sfruttati per investigare diversi aspetti della dinamica di popolazione cellulare. Tra gli approcci esistenti, ProCell è in grado di effettuare simulazioni stocastiche accurate e dettagliate della proliferazione cellulare, sulla base di dati di citometria. In particolare, ProCell valuta automaticamente la validità di ogni scenario di eterogeneità intratumorale definito dall'utilizzatore, ovvero è in grado di dedurre la proporzione delle varie sottopopolazioni cellulari (incluse le cellule quiescenti) e l'intervallo di divisione delle cellule proliferanti (PMID: 33165852 DOI: 10.1007/978-1-0716-0810-4_14).

Abbiamo messo a punto un nuovo metodo per isolare e crescere le singole cellule direttamente da asciti metastatiche dei pazienti, stabilendo le condizioni per propagarle come colture 3D: gli sferoidi di tumore ovarico derivanti da cellule (single cell-derived metastatic ovarian cancer spheroids, sMOCS).

Il tumore ovarico sieroso di alto grado (High Grade Serous Ovarian cancer, HGSOC) rappresenta una sfida nella ricerca oncologica contemporanea, a causa della sua tendenza a disseminare precocemente e a causa della mancanza di modelli umani adeguati per lo studio dei meccanismi di malattia in maniera paziente-specifica. Tramite scRNAseq abbiamo definito la composizione cellulare delle asciti metastatiche e tracciato la sua propagazione in colture 2D e 3D. I nostri studi hanno mostrato che gli sMOCS mantengono e amplificano sottopopolazioni critiche dei campioni originali dei pazienti e ricapitolano le caratteristiche delle metastasi originali che non emergono dalle classiche colture in 2D, compresa la specificità individuale dei pazienti. Consentendo l'arricchimento di determinate sottopopolazioni cellulari da metastasi di HGSOC e lo studio della loro diversità a livello funzionale e molecolare, questo metodo fornisce uno strumento potente per la ricerca sul tumore ovarico, soprattutto nell'ambito della medicina di precisione (PMID: 34845371 DOI: 10.1038/s41418-021-00878-w).

Nuovi approcci terapeutici.

Abbiamo testato in modelli preclinici un nuovo approccio terapeutico, che combina inibitori di DDR e inibitori di BCL-2, per il Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL), un sottotipo di linfoma caratterizzato dalla sovraespressione delle proteine MYC e BCL-2.

I nostri risultati hanno mostrato che nelle cellule di DLBCL livelli elevati di stress ossidativo e danno al DNA contribuiscono all'iperattivazione del pathway DDR. Il trattamento con inibitori del pathway di DDR (Prexasertib) inibiva la proliferazione, probabilmente a causa dell'accumulo di danno al DNA nelle cellule tumorali. Inoltre, la combinazione di diversi inibitori di DDR (incluso Prexasertib) con lo specifico inibitore di BCL-2 Venetoclax -che è stato precedentemente mostrato agire in combinazione con l'antibiotico tigeciclina nei linfomi double-hit- aumentava l'efficacia del trattamento, inducendo stress ossidativo, danno al DNA e morte cellulare in diverse linee cellulari di DLBCL. Abbiamo inoltre dimostrato in che modo gli inibitori di BCL-2 sinergizzano con gli inibitori della DDR: da un lato, la DDR previene l'accumulo di danno al DNA, determinando una aumentata proliferazione (sostenendo così la progressione tumorale). Dall'altro, BCL-2 svolge un noto ruolo protettivo contro lo stress ossidativo (che induce danno al DNA). Quindi il trattamento combinato con inibitori di BCL-2 e DDR risulta in un aumentato danno al DNA (dovuto al maggiore stress ossidativo che risulta da BCL-2 inattivo) e una ridotta abilità della cellula di gestire il danno al DNA (dovuto alla DDR inattiva), il che risulta nell'aumento della morte

cellulare, fornendo un razionale per l'azione sinergica dei due inibitori. Infine, la sovraespressione di MYC è associata con un'aumentata proliferazione cellulare -quindi maggiore stress, maggiore danno al DNA, maggiore attivazione della DDR. Di conseguenza, la sovraespressione di MYC rende le cellule più sensibili all'inibizione della DDR, con conseguente aumentata morte cellulare. I nostri dati supportano quindi il trattamento combinato delle cellule di DLBCL che sovraesprimono MYC/BCL-2 con inibitori di BCL-2 e della DDR, proponendo questo trattamento come nuovo ed efficace trattamento per il DLBCL (PMID 34304248 DOI: 10.1038/s41375-021-01347-6).

Abbiamo mostrato come la combinazione di due farmaci, Venetoclax e IACS è in grado di uccidere in maniera efficace le cellule di linfoma, in particolare del sottotipo Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL), sia in vitro che in modelli preclinici.

Usando cellule in cui Myc poteva essere attivato in maniera specifica, abbiamo osservato che Myc promuoveva l'espressione dei geni oxfos nei linfociti B; di conseguenza, anche l'attività mitocondriale era aumentata. Quando queste cellule erano trattate con IACS, un farmaco che inibisce uno dei complessi proteici della oxfos mitocondriale (il complesso I), l'attivazione di Myc rendeva le cellule significativamente più sensibili a questo farmaco. Quindi, la sovraespressione di Myc rende le cellule DLBCL maggiormente dipendenti dall'attività mitocondriale e quindi anche più sensibili alla morte cellulare indotta da IACS. Abbiamo quindi mostrato che la morte cellulare indotta da IACS avveniva attraverso un meccanismo chiamato "apoptosi intrinseca", che implica il rilascio del citocromo C nel citoplasma attraverso i pori formati da Bax e Bak (due membri della famiglia delle proteine BCL2) nella membrana mitocondriale. Indipendentemente dall'espressione di Myc, il trattamento con IACS induceva alterazioni profonde dell'espressione genica; in particolare, abbiamo sottolineato l'attivazione da parte di IACS dei geni della cosiddetta risposta integrata allo stress (integrated stress response, ISR), che a loro volta influenzano i geni coinvolti nella sopravvivenza e nella morte cellulare. D'altro canto, la sovraespressione di Myc facilitava l'apoptosi indotta da IACS, riducendo i livelli di Bcl2 e Bcl-xL, due proteine che contrastano l'attività di Bax e Bak. Un sottotipo di DLBCL in cui sia MYC che BCL2 sono sovraespressi in seguito a traslocazioni cromosomiche, noto anche come double-hit linfoma, è caratterizzato da una prognosi particolarmente negativa. I nostri studi hanno mostrato che il trattamento combinato con IACS e l'inibitore di BCL2 Venetoclax era in grado di uccidere le cellule di linfoma double-hit in vitro ed indurre la regressione parziale o completa del tumore in modelli murini di linfoma double-hit. Inoltre, in cellule di linfoma BCL2-negative, l'effetto citotossico di IACS era potenziato dall'inibizione di Mcl-1, un'altra proteina della famiglia BCL2 che contrasta la morte cellulare. Precedentemente avevamo mostrato che la tigeciclina –un inibitore della traduzione mitocondriale- agiva in sinergia con Venetoclax nell'uccidere le cellule di linfoma double-hit. In questo lavoro abbiamo determinato il potenziale di nuove

opzioni terapeutiche basate sull'inibizione combinata dell'attività mitocondriale (tramite IACS, colpendo i geni *oxphos*) e le proteine anti-apoptotiche della famiglia BCL2 (tramite Venetoclax) in DLBCL di alto grado associato a Myc (PMID 34632715 doi: 10.1002/1878-0261.13115).

Abbiamo dimostrato, in modelli preclinici, il potenziale terapeutico di un farmaco specifico che, inibendo la proteina LSD1, è in grado di limitare la crescita del GBM.

Il glioblastoma (GBM) è un tumore cerebrale caratterizzato da prognosi infausta e un elevato tasso di recidiva. La recidiva è dovuta alla presenza, all'interno della massa tumorale, di una sottopopolazione di cellule staminali tumorali che sono in grado di adattarsi, sopravvivere allo stress indotto dal microambiente o dalla terapia antitumorale e proliferare, supportando la crescita del tumore. Interferire con la capacità delle cellule staminali tumorali di adattarsi e sopravvivere potrebbe quindi rappresentare un approccio efficace per controllare la malattia. LSD1 è una proteina coinvolta nell'attivazione/repressione genica, implicata in diversi processi fisiologici. Nei tumori, LSD1 è frequentemente sovraespressa e promuove la crescita tumorale. La sua inibizione, invece, ostacola la crescita del tumore e per questa ragione alcuni inibitori di LSD1 sono attualmente in trial clinico per il trattamento della leucemia e del tumore al polmone. Abbiamo mostrato che, in vitro, l'inibitore di LSD1 (nello specifico, l'inibitore DDP_38003, che ha mostrato benefici in modelli murini di leucemia) riduceva l'attività di LSD1, la sopravvivenza e la proliferazione delle cellule staminali di GBM, senza alcun effetto sulle cellule normali (progenitori neuronali). La proteina LSD1 risultava inoltre sovraespressa nelle cellule di GBM umani rispetto ai tessuti umani normali, in particolare nella sottopopolazione di cellule staminali tumorali. Tramite esperimenti in vivo, abbiamo dimostrato la capacità dell'inibitore di LSD1 di attraversare la barriera ematoencefalica, raggiungere il cervello, legarsi a LSD1 e bloccarne l'attività. Il trattamento non induceva alcun effetto avverso significativo, ma era in grado di rallentare notevolmente la crescita del tumore, aumentando la sopravvivenza degli animali. Risultati simili sono stati osservati riducendo o eliminando completamente l'espressione di LSD1, fornendo una conferma ulteriore del fatto che gli effetti osservati fossero effettivamente associati, in maniera specifica, con LSD1. Successivamente, abbiamo definito i meccanismi molecolari coinvolti: il silenziamento di LSD1 riduceva l'espressione di geni implicati nella risposta delle cellule a diverse condizioni di stress (come ad esempio la mancanza di nutrienti), ovvero la cosiddetta Integrated Stress Response (ISR); tra questi, il gene ATF4, il principale mediatore dell'ISR. In seguito all'inibizione di LSD1, l'induzione di ATF4 era compromessa, le cellule staminali di GBM non erano in grado di rispondere in maniera adeguata alle condizioni di stress e morivano; di conseguenza, la crescita del tumore era rallentata. Tuttavia, la ri-espressione di LSD1 o di ATF4 era sufficiente a ripristinare la capacità delle cellule di gestire lo stress e sopravvivere. È importante sottolineare che l'inibitore di LSD1 agiva alterando l'interazione tra LSD1 e la proteina CBP. La perdita

dell'interazione LSD1/CBP preveniva l'attivazione di ATF4, rendendo di conseguenza le cellule staminali di GBM incapaci di rispondere allo stress. Il nostro studio fornisce quindi evidenze convincenti a supporto del potenziale di LSD1 come nuovo target terapeutico per il trattamento del GBM: l'inibitore di LSD1 DDP_38003 è in grado di attraversare la barriera ematoencefalica, raggiungere il cervello e, interagendo con LSD1, prevenire il suo legame con la proteina CBP, compromettendo l'attivazione di ATF4 e la risposta allo stress. Dato che questo meccanismo è necessario alle cellule staminali di GBM per sopravvivere alle condizioni di stress e proliferare, interferire con questo processo determina la morte delle cellule staminali, contribuendo così a ridurre la crescita del GBM e limitare l'insorgenza della recidiva (PMID: 34878824 doi: 10.1126/scitranslmed.abf7036).

Abbiamo identificato il miglior approccio per l'analisi di predizioni binarie basate sulla radiomica, a seconda delle dimensioni del campione del paziente e della forza dell'associazione tra caratteristiche radiomiche ed esito clinico.

La radiomica sfrutta le caratteristiche (features) delle immagini per predire le caratteristiche biologiche dei tumori e l'esito clinico. La scelta dell'algoritmo usato per analizzare le caratteristiche radiomiche ed effettuare delle predizioni ha un forte impatto sui risultati, perciò l'identificazione dei metodi di machine learning per applicazioni radiomiche è cruciale. A tal fine, abbiamo ottenuto dati simulati che riproducevano la correlazione tra features radiomiche estratte da immagini di tomografia computerizzata di 270 pazienti con non-small cell lung cancer associate allo stato del linfonodo. Abbiamo valutato la performance di sei classificatori rispetto a sei metodi di selezione delle features sui dati simulati, usando parametri come AUC (Area Under the Receiver Operating Characteristics Curves), sensibilità, e specificità. Per tutti i metodi di selezione delle features, e indipendentemente dalla forza dell'associazione, i classificatori Random Forest and Extreme Gradient Boosting hanno dato buoni risultati ($AUC \geq 0.73$), mostrando il miglior compromesso tra sensibilità e specificità. Sui piccoli campioni le performance erano generalmente più basse rispetto ai campioni di grandi dimensioni e con maggiori variazioni, e i metodi di selezione delle features generalmente non miglioravano la performance (PMID: 34205631 DOI: 10.3390/cancers13123088).

Il microbiota.

Abbiamo effettuato una caratterizzazione genomica delle sottospecie di Akkermansia nel microbiota umano, sottolineando la variabilità all'interno della specie, esplorando le sue caratteristiche e l'associazione con aspetti della fisiologia umana.

Il microbiota intestinale è l'insieme di batteri ed altri microrganismi viventi che colonizzano l'intestino umano e giocano un ruolo attivo nella salute degli esseri umani. Diversi studi ad esempio riportano

come la composizione del microbiota influenzi l'attività del sistema immunitario. *Akkermansia Muciniphila* è una specie batterica presente nel microbiota intestinale. Negli esseri umani è stata osservata una correlazione inversa tra l'abbondanza di *Akkermansia Muciniphila* e l'indice di massa corporea; inoltre, studi clinici hanno valutato gli effetti della somministrazione di *Akkermansia Muciniphila* nei disordini metabolici e nell'obesità, con risultati promettenti. Attraverso quest'analisi abbiamo identificato quattro nuove sottospecie di *Akkermansia*, geneticamente distinte -in aggiunta alla ben nota *Akkermansia Muciniphila*- che colonizzano l'intestino umano. *Akkermansia Muciniphila* si è rivelata essere la sottospecie prevalente in tutti gli organismi analizzati (gli esseri umani, i topi, altri primati non-umani), mentre le quattro nuove sottospecie di *Akkermansia* risultavano essere piuttosto specifiche per l'intestino umano e, quando presenti nei topi e in primati non-umani, questi erano generalmente animali in cattività piuttosto che animali in libertà, suggerendo che la loro presenza fosse la conseguenza dell'umanizzazione dell'ambiente. Le analisi hanno raramente rivelato le differenti sottospecie di *Akkermansia* insieme nello stesso ospite, mostrando di essere mutualmente esclusive. *Akkermansia Muciniphila* era inoltre più abbondante nelle donne. I nostri studi hanno identificato anche quattro diversi sottotipi di *Akkermansia Muciniphila*, con una diversa prevalenza negli esseri umani; una di queste ad esempio era più abbondante nelle popolazioni non occidentali. La nostra analisi ha confermato anche risultati di studi precedenti che mostravano una correlazione inversa tra *Akkermansia Muciniphila* -ma non altre sottospecie di *Akkermansia*- e l'indice di massa corporea, supportando ulteriormente il suo possibile utilizzo a scopo terapeutico. A questo riguardo, abbiamo dimostrato che le nuove sottospecie di *Akkermansia* non sono resistenti agli antibiotici comunemente utilizzati. La capacità di produrre vitamina B12, un fattore chiave nell'interazione tra il microbiota e l'ospite, variava inoltre tra le diverse sottospecie di *Akkermansia*: mentre la maggioranza delle nuove sottospecie di *Akkermansia* identificate -così come la sottospecie *Akkermansia Glycaniphila*- producono vitamina B12 e potrebbero essere oggetto di studi futuri per un possibile utilizzo al fine di aumentare la produzione di questo elemento critico per la salute umana, *Akkermansia Muciniphila* no. Infine, i nostri risultati suggeriscono che le quattro nuove sottospecie di *Akkermansia* interagiscono con fagi presenti nell'intestino umano, i quali probabilmente contribuiscono a definire la diversità tra le varie sottospecie di *Akkermansia* presenti nell'intestino. Negli ultimi anni il microbiota intestinale sta suscitando un interesse crescente all'interno della comunità scientifica, per via del suo enorme potenziale in ambito terapeutico, per il trattamento non solo dell'obesità e dei disordini metabolici, ma anche per il trattamento dei tumori. Infatti, studi recenti hanno mostrato che il microbiota intestinale -e in particolare l'abbondanza di *Akkermansia Muciniphila*- è in grado di influenzare la risposta all'immunoterapia, sottolineando il potenziale del microbiota come nuovo strumento terapeutico in diversi contesti clinici e

l'importanza di una più profonda comprensione delle sue caratteristiche (PMID: 34261503 doi: 10.1186/s13059-021-02427-7).

Abbiamo dimostrato, in modelli sperimentali di colite, che diversi antibiotici influenzano la capacità del microbiota intestinale di controllare l'infiammazione intestinale, alterando la struttura della comunità microbica e i metaboliti derivati dal microbiota.

E' noto che il microbiota intestinale è coinvolto in diversi processi fisiologici e patologici umani. Gli antibiotici compromettono la composizione e le funzioni del microbiota intestinale, inducendo nell'ospite effetti duraturi dannosi. Studi recenti suggeriscono che l'efficacia di diverse terapie cliniche dipende dall'azione del microbiota intestinale. Abbiamo quindi investigato in che modo diversi trattamenti antibiotici influenzano l'abilità del microbiota intestinale di controllare l'infiammazione in seguito al trapianto di microbiota fecale in modelli sperimentali di colite e in esperimenti ex vivo con biopsie intestinali umane. Abbiamo pretrattato donatori fecali murini con diversi antibiotici, es vancomicina, streptomicina e metronidazolo, prima del trapianto di microbiota fecale in animali colitici. L'analisi del microbiota intestinale, del metaboloma fecale e l'immuno-fenotipizzazione delle cellule immunitarie della lamina propria colonica ha rivelato che il pre-trattamento antibiotico influenzava significativamente la capacità del microbiota di controllare l'infiammazione intestinale. Il microbiota trattato con streptomicina e vancomicina non è stato in grado di controllare l'infiammazione intestinale ed era caratterizzato dal fiorire di patobionti precedentemente associati con malattia del colon infiammato (inflammatory bowel disease, IBD), così come con metaboliti associati alla presenza di stress ossidativo e metabolismo degli zuccheri semplici. Al contrario, il microbiota trattato con metronidazolo manteneva la sua capacità di controllare l'infiammazione che si verificava insieme all'arricchimento di lactobacillus e della risposta immunitaria innata che coinvolgeva le cellule iNKT. Inoltre, colture ex vivo di cellule mononucleari della lamina propria intestinale umana e cellule iNKT di pazienti IBD pretrattati con vancomicina hanno mostrato delle alterazioni nella popolazione di cellule T CD4+; il metronidazolo d'altro canto, induceva la polarizzazione delle cellule iNKT verso la produzione di IL10 (PMID: 33549144 DOI: 10.1186/s40168-020-00991-x).

Al fine di comprendere l'associazione tra vitamina D e alterazioni del microbiota intestinale, che sono state dimostrate mediare alcune delle funzioni extra-scheletriche della vitamina D che coinvolgono il sistema immunitario, abbiamo condotto una review sistematica degli studi esistenti condotti sui pazienti. Abbiamo incluso nella meta-analisi studi pubblicati fino a gennaio 2021 che riportavano l'associazione tra microbiota intestinale e vitamina D. Abbiamo identificato 25 studi: 14 interventistici e 11 osservazionali. Abbiamo riscontrato un'associazione tra supplementazione di vitamina D e cambiamenti significativi nella composizione del microbiota, in particolare dei filo Firmicutes, Actinobacteria and Bacteroidetes. Inoltre,

la presenza/abbondanza di Firmicutes correlava con la presenza/abbondanza di vitamina D nel siero. Inoltre, l'elevata assunzione di vitamina D sembrava alterare la composizione batterica. Le famiglie Veillonellaceae e Oscillospiraceae, nel phylum Firmicutes, si riducevano più frequentemente sia all'aumentare dei livelli di 25(OH)D sia in seguito alla supplementazione di vitamina D (PMID: 34684379 DOI: 10.3390/nu13103378).

Al fine di investigare l'interazione tra obesità, dieta, rischio di tumore del colon-retto e microbiota, abbiamo effettuato uno studio su 34 casi di tumore del colon-retto e 32 controlli, analizzando la composizione del microbiota, così da valutare il ruolo del microbiota e della dieta nell'eziologia del tumore del colon-retto, prendendo in considerazione la vitamina D ed altri biomarcatori di rischio.

I nostri risultati hanno dimostrato che i casi di tumore del colon-retto mostravano più spesso una carenza di vitamina D rispetto ai controlli; la frequenza dei polimorfismi FokI e CYP24A1 era diversa tra i diversi casi e i controlli. La dieta povera di pesce grasso e ricca di carboidrati era significativamente associata con il rischio di tumore del colon-retto. L'analisi ha confermato il ruolo del microbiota nel rapporto tra i livelli dei batteri Bifidobacteria/Escherichia che sono noti aumentare il rischio di tumore del colon-retto e che sono un indicatore di salute del microbiota intestinale. Il nostro studio suggerisce quindi che il microbiota medii l'effetto della dieta sul rischio di tumore del colon-retto e che la vitamina D e i marker di infiammazione siano altri fattori da considerare per una migliore conoscenza dell'intero processo di carcinogenesi (PMID: 33504116 DOI: 10.3390/nu13020363).

Meta-analisi

Abbiamo effettuato una meta-analisi della letteratura per sottolineare punti chiave che potrebbero aiutare a comprendere l'associazione tra età dei pazienti al momento della diagnosi e prognosi nel cancro della lingua.

Se da un lato diverse evidenze suggeriscono un aumento dell'incidenza di cancro della lingua nei giovani, gli studi pubblicati sul ruolo prognostico dell'età al momento della diagnosi sono inconsistenti. Abbiamo quindi effettuato una review sistematica di tutti gli studi pubblicati che valutano i rischi di recidiva e la mortalità associata al cancro della lingua. Abbiamo paragonato le stime dei rischi tra i pazienti sopra i 45 anni e quelli sotto i 45 anni al momento della diagnosi. Abbiamo incluso 31 studi di coorte indipendenti pubblicati tra 1989 e 2019; questi studi includevano un totale di 28288 pazienti. Quando le stime del rischio non erano corrette per fattori "confounder", non emergeva alcuna associazione tra età alla diagnosi e sopravvivenza. Al contrario, dopo aggiustamento dei "confounder", l'età più avanzata alla diagnosi era associata ad un significativo aumento della mortalità. I pazienti più giovani avevano un rischio significativamente maggiore di recidiva locale rispetto ai pazienti più anziani (PMID: 33760398 DOI: 10.1002/cam4.3795).

Tramite una collaborazione internazionale, abbiamo identificato un'associazione tra l'obesità e il rischio di tumore del colon-retto (CRC) in soggetti di sesso maschile affetti da sindrome di Lynch, una sindrome ereditaria causata dalla presenza di alterazioni in geni coinvolti nel riparo del danno al DNA (mismatch repair), con conseguente aumento del rischio di tumore.

La sindrome di Lynch viene diagnosticata sulla base dell'identificazione di mutazioni nei geni MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 –mismatch repair genes- o EPCAM –molecola di adesione cellulare-. Attraverso l'analisi di dati presenti in letteratura (nello specifico quattro studi pubblicati tra il 2007 e il 2015) che valutano l'associazione tra il peso corporeo e il rischio di CRC in pazienti con sindrome di Lynch, abbiamo evidenziato come il rischio di sviluppare CRC raddoppi negli uomini obesi rispetto ai non obesi; non è stato riscontrato invece alcun aumento significativo del rischio dovuto all'obesità nelle donne. Inoltre, abbiamo osservato una significativa correlazione tra obesità e rischio di sviluppare CRC nei pazienti portatori di mutazioni del gene MLH1. Studi precedenti avevano già dimostrato un'associazione tra CRC e obesità nella popolazione generale (mostrando in particolare come l'obesità rappresenti un fattore di rischio maggiore di CRC negli uomini rispetto alle donne). Questa meta-analisi mostra che l'obesità aumenta il rischio di sviluppare CRC anche nei pazienti con sindrome di Lynch, soprattutto negli uomini (PMID: 34065344 doi: 10.3390/nu13051736).

Abbiamo condotto una meta-analisi dei 21 articoli pubblicati negli ultimi 30 anni (nello specifico tra il 1980 e il 2021) che hanno analizzato gli effetti sulla sopravvivenza se i pazienti smettevano di fumare 12 mesi prima della diagnosi, al momento della diagnosi, oppure dopo la diagnosi di tumore al polmone. Nonostante i recenti progressi nell'approccio terapeutico ai pazienti con tumore al polmone, la prognosi rimane, nella maggioranza dei casi, scarsa. Il fumo di sigaretta è uno dei maggiori fattori di rischio per il tumore al polmone e, infatti, la lotta al consumo di tabacco rappresenta una delle principali misure di prevenzione contro questo tumore. La nostra analisi ha sottolineato che la sopravvivenza dei pazienti con tumore al polmone era maggiore per coloro che avevano smesso di fumare rispetto a quelli che avevano continuato a fumare. Questa associazione era anche più forte quando venivano considerati solo i pazienti che avevano smesso di fumare al momento della diagnosi o dopo (escludendo quindi quelli che avevano smesso di fumare prima della diagnosi). Sebbene non siano note le ragioni biologiche alla base di questa associazione e del noto effetto del tabacco sulla progressione tumorale, potenziali motivazioni potrebbero essere ricercate nei cambiamenti, riportati in studi precedenti, indotti dal fumo a livello epigenetico (in particolare gli effetti sulla metilazione del DNA). Prima di questo studio, la sola altra analisi disponibile sull'argomento risale al 2010. Se da un lato quell'analisi suggeriva i potenziali benefici che i pazienti con tumore al polmone potessero ricavare smettendo di fumare, dall'altro le conclusioni erano in qualche modo indebolite dallo scarso numero di studi considerati e all'epoca

disponibili sull'argomento. Il nostro lavoro conferma quei dati con un'analisi più robusta che, includendo un maggior numero di studi, rafforza le loro conclusioni e supporta fortemente programmi volti ad invitare e sostenere i pazienti nei loro tentativi di smettere di fumare (PMID: 34995798 DOI: 10.1016/j.jtho.2021.12.005).

Abbiamo effettuato una meta-analisi al fine di comprendere l'associazione tra vitamina D e tumore della pelle non-melanoma (NMSC).

A questo scopo abbiamo analizzato 24 studi pubblicati fino a febbraio 2021 che riportavano dati sull'associazione tra assunzione di vitamina D e i. concentrazione di vitamina D nel sangue, ii. polimorfismi del recettore della vitamina D e iii. della proteina che lega la vitamina D, con il rischio di NMSC. Il nostro studio non ha evidenziato una forte relazione tra metabolismo della vitamina D e rischio di NMSC (PMID: 34638299 DOI: 10.3390/cancers13194815).

Abbiamo effettuato una meta-analisi dell'associazione tra mutazioni somatiche del promotore del gene TERT e la sopravvivenza dei pazienti affetti da melanoma.

Sono stati raggruppati i dati derivanti da 19 studi indipendenti (> 2500 melanomi). Pazienti con melanoma mutato in TERT avevano una sopravvivenza significativamente peggiore (overall survival) rispetto ai WT. L'associazione è risultata persino più forte quando abbiamo combinato la stima del rischio per overall survival e sopravvivenza melanoma-specifica e quando abbiamo ristretto l'analisi a studi principalmente basati su melanomi cutanei invasivi non-acrali. Il nostro studio quindi suggerisce un effetto negativo di mutazioni di TERT sulla sopravvivenza dei pazienti affetti da melanoma (PMID: 33675908 DOI: 10.1016/j.critrevonc.2021.103288).

Abbiamo quindi effettuato una meta-analisi dell'associazione tra le varianti del gene MC1R e la frequenza di mutazioni somatiche nei geni TERT, BRAF e NRAS in pazienti con melanoma cutaneo.

Le varianti germinali del gene del recettore della melanocortina 1 (MC1R) sono il più comune tratto genetico che predispone al melanoma cutaneo. I nostri studi hanno evidenziato che varianti geniche di MC1R non erano significativamente associate con la frequenza di mutazioni somatiche dei geni BRAF e NRAS. Solo tre studi si focalizzavano sulle mutazioni somatiche del promotore del gene TERT, tutte riportavano associazioni positive da moderate a forti con le varianti germinali di MC1R. Le varianti del gene MC1R sembravano inoltre influenzare in maniera solo moderata, o inesistente, il rischio di melanoma cutaneo BRAF o NRAS mutante (PMID: 33444485 doi: 10.1002/mc.23280).

Ricerca clinica.

I risultati principali delle attività di ricerca clinica sono riportati di seguito, suddivisi per programma multidisciplinare di riferimento.

Programma Cervico Facciale.

Abbiamo mostrato la prevalenza di metastasi ai linfonodi del compartimento centrale nel microcarcinoma papillare della tiroide.

Il microcarcinoma papillare della tiroide è considerato un carcinoma relativamente indolente, spesso nascosto, con una buona prognosi e un esito favorevole. Tuttavia, le metastasi ai linfonodi centrali sono comuni e associate ad una prognosi infausta. Abbiamo quindi effettuato un'analisi retrospettiva su 195 pazienti trattati chirurgicamente per microcarcinoma papillare della tiroide allo stadio T1. Abbiamo valutato la presenza di metastasi ai linfonodi centrali. La nostra analisi ha evidenziato che, in pazienti T1, le metastasi ai linfonodi centrali erano associate con il sesso (maschile), l'età (giovanile) e le caratteristiche istopatologiche come la localizzazione (sub-capsulare) del tumore. Erano presenti metastasi anche in pazienti con microcarcinoma papillare della tiroide che avevano subito resezione chirurgica. Studiare questi fattori potrebbe in futuro rappresentare uno strumento efficiente per predire le metastasi in questi pazienti e definire un trattamento chirurgico ad hoc (PMID: 34885138 DOI: 10.3390/cancers13236028).

Abbiamo valutato le potenzialità di una strategia chirurgica di preservazione dell'organo nel tumore della laringe in stadio avanzato.

Il cancro della laringe in stadio avanzato necessita un trattamento multimodale. Negli ultimi decenni sono stati sviluppati diversi approcci medici e chirurgici per preservare le funzionalità dell'organo e allo stesso tempo mantenere lo stesso livello di efficacia nella cura del tumore. Abbiamo raccolto la nostra esperienza nella chirurgia conservativa per il trattamento del tumore alla laringe in stadio avanzato. Abbiamo incluso nell'analisi 110 pazienti: nel 51% dei casi è stata impiegata la terapia adiuvante; il controllo locale della malattia era del 96.4% mentre la overall survival era del 67% e la sopravvivenza in assenza di disfunzione laringo-esofagea era del 66%. I tumori al quarto stadio e l'invasione vascolare erano statisticamente associate con una minore sopravvivenza (PMID: 34757315 DOI: 10.1016/j.amjoto.2021.103272).

Abbiamo valutato il ruolo prognostico dell'età al momento della diagnosi sulla sopravvivenza dei pazienti con tumore della lingua.

Il ruolo prognostico dell'età tra i pazienti affetti da carcinoma cellulare squamoso della lingua è oggetto di dibattito. Studi recenti hanno evidenziato come i pazienti che hanno ricevuto una diagnosi ad una età di 40 anni o meno abbiano una prognosi migliore. Abbiamo quindi innanzi tutto effettuato una meta-analisi della letteratura per evidenziare punti chiave che potrebbero aiutare nella comprensione dell'associazione tra prognosi ed età dei pazienti al momento della diagnosi. Abbiamo confrontato le

stime di rischio tra pazienti con età maggiore di 45 anni e pazienti con età minore di 45 anni al momento della diagnosi. Abbiamo incluso nell'analisi 31 studi indipendenti pubblicati tra il 1989 e il 2019; questi studi includevano un totale di 28.288 pazienti. Dopo aver corretto per i confounders, l'età più avanzata alla diagnosi era associata con un rischio significativamente maggiore di mortalità. I pazienti più giovani avevano un rischio significativamente maggiore di recidiva locale. Quindi il nostro studio ha evidenziato che i pazienti più giovani con tumore della lingua avevano una maggiore sopravvivenza ma un maggior rischio di recidiva rispetto ai pazienti più anziani (PMID: 33760398 DOI: 10.1002/cam4.3795). Successivamente, abbiamo disegnato uno studio volto a chiarire se l'età fosse un fattore prognostico indipendente e discutere la variabilità in termini di esito clinico a seconda dello stadio e del tipo di trattamento nei diversi gruppi di età. Abbiamo quindi effettuato uno studio su 577 pazienti con tumore della lingua trattati con chirurgia o terapia adiuvante, a seconda dello stadio, in IEO. I pazienti con età alla diagnosi inferiore ai 40 anni erano 109 (19%). Il periodo di follow-up mediano era di 5 anni. Dopo aver corretto per tutti i fattori prognostici e possibili confounders, la giovane età alla diagnosi risultava associata con una migliore sopravvivenza: i pazienti giovani soccombevano alla malattia meno rispetto alle persone anziane (PMID: 33912446 DOI: 10.3389/fonc.2021.616653).

Programma Nuovi Farmaci.

Abbiamo valutato le variazioni dell'espressione di HER2 nel tumore al seno in stadio precoce o avanzato. La bassa espressione di HER2 è stata proposta come potenziale biomarcatore actionable per il trattamento del tumore al seno con nuovi farmaci anti-HER2. Tuttavia l'evoluzione di questo biomarcatore durante il corso della malattia non è ben caratterizzato ed esistono dati controversi sulle sue implicazioni prognostiche. Abbiamo quindi revisionato dati di pazienti con tumore al seno HER2 negativo (secondo le linee guida ASCO/CAP più recenti) riferiti tra il gennaio 2014 e dicembre 2020. Abbiamo raggruppato i pazienti sulla base dell'espressione istochimica di HER2 in HER2-zero (nessuna espressione di HER2) HER2-low (sottogruppo a bassa espressione) ed abbiamo valutato l'evoluzione dell'espressione di HER2 tra il tumore primario e la prima biopsia raccolta in stadio avanzato. La nostra analisi includeva 232 pazienti. Abbiamo riscontrato una significativa discordanza nell'espressione di HER2 tra il tumore primario e la biopsia corrispondente. Non abbiamo tuttavia osservato differenze nella sopravvivenza tra i tumori primari HER2-low e HER2-zero. Il nostro studio ha quindi dimostrato che l'espressione di HER2 è dinamica nel tumore al seno e potrebbe aumentare negli stadi avanzati. Non abbiamo riscontrato alcuna significatività prognostica per la bassa espressione di HER2 (PMID: 35032815 DOI: 10.1016/j.ejca.2021.12.022).

Abbiamo valutato l'esito clinico di pazienti con tumore al seno metastatico in studi clinici di fase I.

Gli studi clinici di fase I volti a valutare l'efficacia di terapia molecolare e immunoterapia hanno determinato un miglioramento nella cura dei pazienti oncologici. Questi studi sono disegnati principalmente per pazienti con tipi di tumore diversi, perciò le informazioni disponibili sulle caratteristiche e l'esito di tumori specifici sono scarse. Abbiamo quindi valutato l'esito dei pazienti con tumore al seno metastatico in studi clinici di fase I volti a testare terapia molecolare immunoterapia, o una combinazione delle due. Abbiamo quindi effettuato un'analisi retrospettiva dei dati raccolti tra il 2014 e il 2019 nel nostro istituto. Abbiamo valutato progression-free survival, overall survival, overall response rate, disease control rate e mortalità a 90 giorni. Il nostro studio ha fornito nuove conoscenze sui tumori al seno metastatici trattati nel contesto di studi clinici di fase I. I pazienti con cancro al seno triplo negativo hanno ancora una cattiva prognosi e i trattamenti basati su terapia molecolare, soprattutto sulla base di marcatori, hanno una prognosi migliore. I pazienti con un basso tumor mutational burden possono ricevere benefici significativi (PMID: 34474219 DOI: 10.1016/j.ejca.2021.07.037).

Abbiamo effettuato uno studio multicentrico di fase Ib per valutare gli effetti della somministrazione di Alpelisib in combinazione con everolimus \pm exemestane nel trattamento dei tumori solidi.

Il trattamento combinato dell'inibizione di mTORC1 con everolimus (EVE) e alpelisib (ALP) ha dimostrato un effetto sinergico in modelli preclinici, supportando studi ulteriori volti a testare la combinazione di ALP e EVE in un setting clinico. Abbiamo quindi determinato la dose massima tollerata (MTD)/dose raccomandata per l'espansione (RDE) di ALP in combinazione con EVE, la combinazione di EVE e exemestane (EXE). Successivamente abbiamo valutato sicurezza, efficacia ed effetto di ALP sulla farmacocinetica di EVE e determinato il grado di interazione tra i due farmaci. I nostri risultati hanno evidenziato un profilo di sicurezza del trattamento combinato con ALP, EVE ed EXE gestibile e reversibile; non abbiamo osservato nulla di anomalo rispetto ai profili di sicurezza dei due farmaci somministrati individualmente. La farmacocinetica di ALP, EVE ed EXE non risultava modificata in seguito alla combinazione con gli altri (PMID: 33964572 DOI: 10.1016/j.ejca.2021.03.042).

Abbiamo effettuato un'analisi multiparametrica volta a valutare l'associazione tra adiposità (misurata usando l'indice di massa corporea e la misurazione del grasso corporeo basata su tomografia computerizzata), i linfociti infiltranti il tumore e l'esito clinico nei pazienti con tumore al seno in stadio avanzato trattati con immunoterapia in studi clinici di fase I.

Abbiamo incluso nell'analisi 153 pazienti con tumore solido metastatico trattati nell'ambito di studi clinici di immunoterapia di fase I tra agosto 2014 e maggio 2019 nel nostro istituto. Abbiamo raccolto i dati riguardanti l'indice di massa corporea, linfociti infiltranti e indice di grasso corporeo. L'obiettivo dello studio era valutare l'impatto di questi parametri sulla sopravvivenza e la progressione della malattia. La nostra analisi ha mostrato una maggiore sopravvivenza dei pazienti oncologici con un rapporto elevato

tra grasso viscerale e sottocutaneo che rispondevano alla terapia con checkpoint immunitari (PMID: 33493979 DOI: 10.1016/j.ejca.2020.12.028).

Abbiamo condotto uno studio clinico di fase I/II per valutare sicurezza ed efficacia di sibatolimab (MBG453), in combinazione oppure no con spartalizumab -anticorpi che legano rispettivamente il T-cell immunoglobulin domain and mucin domain-3 (TIM-3) e programmed death-1 (PD-1)- in pazienti con tumori solidi in stadio avanzato.

Il nostro obiettivo era quello di caratterizzare la sicurezza e stimare la dose raccomandata per gli studi di fase II. Abbiamo dimostrato che il trattamento combinato con Sibatolimab e spartalizumab era ben tollerato ed aveva effetti antitumorali. Abbiamo inoltre identificato la dose raccomandata per la fase II, di sibatolimab (800mg ogni quattro settimane) in combinazione, o no, con 400 mg di spartalizumab ogni quattro settimane (PMID: 33883177 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-20-4746).

Programma Tumori dell'Apparato Digerente e Neuroendocrini.

Abbiamo valutato la sopravvivenza dei pazienti con carcinoma neuroendocrino gastroenteropatico a piccole e grandi cellule.

L'organizzazione mondiale della sanità ha recentemente classificato i tumori neuroendocrini gastroenteropatici poco differenziati in tumori a piccole cellule e a grandi cellule. Noi abbiamo valutato le differenze nell'esito tra pazienti con categorie istologiche diverse. Abbiamo consultato i database di pazienti trattati tra il 1975 e il 2016. Abbiamo valutato in totale 2.204 pazienti (1698 con tumori a piccole cellule e 506 con tumori a grandi cellule). Le nostre analisi hanno evidenziato una migliore sopravvivenza dei pazienti con tumori a grandi cellule rispetto a quelli a piccole cellule (PMID: 33870570 DOI: 10.1111/jne.12971). Abbiamo inoltre valutato le differenze legate al sesso nella prognosi dei pazienti ed analizzando i database di 20.836 pazienti (10.336 maschi e 10.500 donne) trattati tra il 1975 e 2016. Il nostro studio ha evidenziato una migliore sopravvivenza delle pazienti donne con questo tipo di tumore (PMID: 34016894 DOI: 10.1097/MPA.0000000000001821).

Abbiamo valutato la relazione tra tossicità metabolica ed efficacia di everolimus in pazienti con tumori neuroendocrini.

Iperglicemia e ipercolesterolemia sono effetti collaterali degli inibitori del mammalian target of rapamycin, come everolimus. Abbiamo quindi analizzato il potenziale impatto di questi effetti collaterali sull'efficacia di everolimus. I pazienti con tumore pancreatico, gastrointestinale o polmonare neuroendocrino in stadio precoce avanzato o intermedio sono stati trattati con everolimus per via orale (10mg/9g) nel contesto dei trial clinici RADIANT-3 e RADIANT-4. Abbiamo valutato la sopravvivenza in assenza di progressione della malattia (progression-free survival, PFS) che è risultata essere 11.4 mesi.

Circa 19% e 10% dei pazienti trattati con everolimus più a lungo nello studio RADIANT-3 e circa 12% e 6% dei pazienti nello studio RADIANT-4 rispettivamente hanno sviluppato iperglicemia e ipercolesterolemia. Tuttavia non abbiamo riscontrato alcuna associazione tra lo sviluppo di questi effetti collaterali e la PFS, dimostrando che l'efficacia del farmaco non è influenzata dalla eventuale presenza di tali effetti collaterali (PMID: 33857327 DOI: 10.1002/cncr.33540).

Abbiamo condotto un'analisi retrospettiva al fine di valutare l'attività e la tossicità della chemioterapia con Temozolomide (TEM) in pazienti con tumori neuroendocrini (NEN) e la potenziale correlazione con fattori clinico/biologici.

Studi precedenti hanno infatti riportato l'efficacia di TEM da solo o in combinazione con capecitabine (CAP) in pazienti con NEN. Abbiamo incluso nell'analisi 170 pazienti trattati tra settembre 2008 e aprile 2020 (114 con TEM-CAP e 56 con TEM da solo) ed abbiamo valutato la risposta (parziale o completa), la sopravvivenza senza progressione della malattia (PFS) e la tossicità. Questa analisi retrospettiva suggerisce che la chemioterapia con TEM funzioni in pazienti NEN in stadio avanzato pretrattati. L'analisi della tossicità ha evidenziato il manifestarsi di vomito e leucopenia quali effetti collaterali avversi di 3 e 4 grado (PMID: 32700133 DOI: 10.1007/s12020-020-02421-2).

Programma Ginecologia.

Abbiamo confrontato l'uso di paclitaxel rispetto al trattamento combinato Olaparib-cediranib nel tumore ovarico di alto grado resistente al platino.

Studi precedenti hanno mostrato che il trattamento combinato cediranib-olaparib aumenta la PFS nelle donne con tumore ovarico recidivato sensibile al platino rispetto al trattamento con olaparib da solo. Il clinical trial BAROCCO comprendeva il trattamento di 123 pazienti: pazienti trattati con Olaparib-cediranib, oppure Cediranib da solo, e pazienti trattati con paclitaxel come controllo. Abbiamo valutato la PFS rispetto al controllo. Il nostro studio ha evidenziato che la combinazione di cediranib-olaparib non era superiore alla chemioterapia in termini di PFS nelle pazienti con tumore ovarico resistente al platino pretrattati con elevate dosi. Tuttavia questa combinazione si è rivelata efficace, rappresentando una nuova opzione per il trattamento di queste pazienti (PMID: 35063281 DOI: 10.1016/j.ygyno.2022.01.015).

Abbiamo valutato i benefici relativi dell'aggiunta di pembrolizumab alla chemioterapia, con o senza bevacizumab.

Pembrolizumab è efficace nel tumore cervicale metastatico o non resecabile PDL1-positivo progredito durante la chemioterapia. Abbiamo effettuato uno studio clinico di fase 3, in doppio cieco, assegnando in maniera casuale i pazienti con tumore cervicale persistente, ricorrente o metastatico in un rapporto

1:1 a ricevere pembrolizumab o placebo in aggiunta al trattamento chemioterapico a base di platino e, a discrezione dell'investigatore, anche bevacizumab. Abbiamo valutato in 548 pazienti la PFS e la overall survival. Il nostro studio ha evidenziato PFS e overall survival significativamente maggiore nei pazienti trattati con pembrolizumab in aggiunta alla chemioterapia, con o senza bevacizumab, rispetto al placebo (PMID: 34534429 DOI: 10.1056/NEJMoa2112435).

Abbiamo valutato la sicurezza del trattamento a lungo termine e la tollerabilità di Bevacizumab nei pazienti con tumori solidi.

Abbiamo analizzato l'incidenza di effetti collaterali seri e morte associati al trattamento prolungato con Bevacizumab in una coorte di pazienti che hanno inizialmente risposto alla terapia con Bevacizumab. In particolare, sono stati inclusi nello studio 95 pazienti con tumore ovarico o carcinoma peritoneale, tumore al polmone, glioblastoma multiforme, tumore al seno, tumore del colon retto, carcinoma renale. I nostri risultati suggeriscono che bevacizumab sia ben tollerato per il trattamento prolungato di pazienti con vari tumori solidi, estendendo il periodo di trattamento di almeno 5 anni e oltre dieci anni in alcuni individui (PMID: 34498344 DOI: 10.1002/onco.13971).

Abbiamo valutato la tolleranza al trattamento di mantenimento con olaparib in pazienti diagnosticati con tumore ovarico avanzato e mutazioni nel gene BRCA.

Nel contesto dello studio di fase III SOLO1, il trattamento di mantenimento con olaparib ha fornito un sostanziale beneficio della PFS nei pazienti con una diagnosi di tumore ovarico in stadio avanzato e una mutazione in BRCA che rispondevano a chemioterapia basata sul platino. Abbiamo analizzato le tempistiche, la durata e la severità dei più comuni effetti collaterali ematologici e non ematologici nello studio SOLO1. I nostri dati mostrano che gli effetti collaterali indotti da olaparib sono attesi e ampiamente gestibili, generalmente si manifestano precocemente, e solo in una minoranza di pazienti hanno determinato l'interruzione del trattamento (PMID: 34353615 DOI: 10.1016/j.ygyno.2021.07.016).

Abbiamo validato il valore dell'inibina B come potenziale marcatore per valutare le recidive e valutare il suo ruolo nel guidare esami di follow-up e strategie terapeutiche in pazienti in post-menopausa con tumore ovarico delle cellule della granulosa.

Sono stati proposti diversi biomarcatori per rilevare la recidiva nei tumori ovarici delle cellule della granulosa. Abbiamo incluso nello studio 140 pazienti che si sono rivolti al nostro istituto, sono stati diagnosticati con questo tipo di tumore tra il 1996 e il 2016 ed analizzati nell'ambito di uno studio retrospettivo. Tra questi, abbiamo selezionato i dati di 47 donne in post-menopausa per cui le misurazioni seriali di inibina B e gli esami di imaging sono stati condotti secondo specifici programmi di follow up, per un totale di 315 campioni, insieme all'esame clinico, e 180 esami di imaging a conferma della presenza o assenza di malattia macroscopica. I nostri risultati hanno confermato che inibina B è un marcatore

sensibile e specifico per questo tipo di tumore che potrebbe essere usato durante il follow up per rilevare la recidiva. Inoltre, inibina B potrebbe guidare i clinici nel decidere quando effettuare esami di imaging, evitando test ridondanti in assenza di sospetti clinici (PMID: 33893147 DOI: 10.1136/ijgc-2020-002205).

Programma Urologia e Trattamento Mininvasivo della Prostata.

Abbiamo investigato la possibilità di fornire una navigazione autonoma dell'endoscopio durante la procedura chirurgica mininvasiva.

I robot per la chirurgia minimamente invasiva introducono molti vantaggi, ma richiedono ancora un controllo da parte del chirurgo alternativamente degli strumenti chirurgici e dell'endoscopio durante la procedura chirurgica. Abbiamo quindi condotto uno studio di usabilità. Il movimento dell'endoscopio autonomo era basato sul tracciamento cinematico degli strumenti chirurgici ed integrato con il kit di ricerca da Vinci. Dieci urologi hanno condotto uno studio preclinico di usabilità, valutata mediante la compilazione di un sistema di score standard; l'efficacia del metodo era valutata analizzando il tempo totale della procedura ed il tempo speso con lo strumento fuori dal campo visivo. Lo score di usabilità superava la soglia solitamente identificata come limite per valutare una buona usabilità. La media del tempo totale della procedura con l'endoscopio autonomo era paragonabile al controllo classico, ma riduceva notevolmente il tempo speso fuori dal campo visivo. Sulla base di questi dati, possiamo affermare che l'endoscopio autonomo migliora l'usabilità del sistema chirurgico e ha il potenziale di essere uno strumento aggiuntivo e personalizzabile per il chirurgo che può in ogni momento prendere il controllo dell'endoscopio o lasciarlo in modalità autonoma (PMID: 34901168 DOI: 10.3389/frobt.2021.707704).

Abbiamo investigato il ruolo dell'età alla diagnosi nel predire il comportamento del carcinoma in situ della vescica.

I nostri risultati evidenziano un'associazione tra età avanzata alla diagnosi e aumentato rischio di recidiva e progressione del carcinoma in situ della vescica e suggeriscono che i pazienti anziani potrebbero non rispondere alla terapia con trattamento immunoterapico intravesicale (BCG, Bacillus Calmette-Guerin) (PMID: 35033480 DOI: 10.1016/j.clgc.2021.12.005).

Abbiamo testato l'utilizzo dello score PSIM per l'identificazione di tumori della prostata in pazienti sotto attiva sorveglianza.

I livelli circolanti di linfociti, piastrine e neutrofili sono fattori associati ad un esito clinico non favorevole per molti tumori solidi. Abbiamo quindi valutato e validato l'uso dello score PSIM (Prostatic Systemic Inflammatory Markers), basato sull'espressione di marcatori di infiammazione, per predire e migliorare

la rilevazione di tumore alla prostata clinicamente significativo in uomini che hanno subito una prostatectomia radicale robotizzata per tumore della prostata a basso rischio con i requisiti per una sorveglianza attiva. Sono stati quindi analizzati i dati di 260 pazienti e abbiamo paragonato i dati istologici dei campioni dopo prostatectomia radicale e biopsia prostatica. I nostri risultati hanno evidenziato che il PSIM rappresenta una variabile prognostica indipendente di patologia avversa (PMID: 33672650 DOI: 10.3390/diagnostics11020355).

Programma Senologia.

Abbiamo valutato l'uso di Caelyx come adiuvante per il trattamento del tumore al seno del sottotipo luminal B in stadio precoce.

La chemioterapia adiuvante per il trattamento dei tumori al seno luminal B solitamente include regimi basati su antracicline. Tuttavia alcuni pazienti sono riluttanti a ricevere chemioterapia per via degli effetti collaterali, soprattutto alopecia, e chiedono quindi un approccio personalizzato meno intensivo. Abbiamo quindi condotto uno studio clinico di fase II per valutare la fattibilità dell'utilizzo di doxorubicina come chemioterapia adiuvante. Lo studio ha dimostrato la fattibilità dell'approccio e ha mostrato di essere ben tollerato (87% dei pazienti ha completato il trattamento, solo il 13% ha mostrato effetti collaterali di grado 3, e nessuno ha mostrato segni di alopecia) e potrebbe essere ulteriormente testato come opzione terapeutica per i pazienti con controindicazioni al trattamento con antracicline standard o che richiedono un approccio personalizzato meno intensivo (PMID: 34940072 DOI: 10.3390/currncol28060433).

Abbiamo valutato il ruolo della chemioterapia adiuvante in pazienti con tumore al seno triplo negativo (TNBC) con malattia residua dopo Chemioterapia Neoadiuvante (NACT).

La risposta incompleta a Chemioterapia Neoadiuvante (NACT) in pazienti con TNBC correla con un elevato rischio di recidiva. Abbiamo quindi analizzato retrospettivamente l'esito di 233 pazienti TNBC trattati tra gennaio 2000 e dicembre 2016, con malattia residua in seguito a chirurgia e dopo trattamento con NACT, seguito da chemioterapia adiuvante o sorveglianza ed abbiamo valutato overall survival e disease-free survival. La nostra analisi retrospettiva in una ampia coorte di pazienti TNBC con malattia residua dopo NACT conferma i benefici dell'aggiunta di un trattamento post operatorio per ridurre il rischio di recidiva e morte (PMID: 34407499 DOI: 10.1016/j.breast.2021.08.004).

Abbiamo valutato i benefici clinici della chemioterapia metronomica nel trattamento di pazienti con tumore al seno metastatico.

La chemioterapia metronomica è un'opzione terapeutica per i pazienti con tumore al seno metastatico che richiedono un controllo prolungato della malattia senza tossicità cumulativa. La disponibilità dei dati sull'efficacia e la tollerabilità dell'uso prolungato della terapia metronomica sono tuttavia limitati.

Abbiamo quindi analizzato 67 pazienti con tumore al seno metastatico che hanno ricevuto benefici per una durata di almeno 12 mesi con un regime che prevede il trattamento con vinorelbine/cyclophosphamide/capecitabine. I risultati sottolineano che questo regime terapeutico può indurre benefici clinici prolungati in pazienti con tumore al seno metastatico. Inoltre, sulla base di questa valutazione sulla sicurezza a lungo termine, non c'è evidenza di tossicità specifica cumulativa o tardiva con la chemioterapia metronomica (PMID: 34407044 DOI: 10.1097/CAD.0000000000001209).

Abbiamo valutato la sicurezza di un intervento chirurgico oncoplastico conservativo per tumori al seno multifocali e multicentrici.

La chirurgia oncoplastica è un approccio che combina la preservazione del seno durante il trattamento del tumore al seno, con tecniche di chirurgia plastica. Sebbene questo approccio sia stato descritto per tumori multicentrici e multifocali, non ci sono ad oggi valutazioni oncologiche a lungo termine e confronti con pazienti che hanno ricevuto una mastectomia. Abbiamo quindi valutato se la chirurgia oncoplastica sia un trattamento sicuro e affidabile per gestire il tumore al seno primario invasivo multifocale e multicentrico. 200 pazienti con tumore al seno multifocale o multicentrico sono stati inclusi nello studio (100 controlli-mastectomia e 100 chirurgia oncoplastica) ed abbiamo valutato disease-free survival, overall survival, incidenza di recidiva locale, regionale, distante. Le differenze tra i due gruppi non erano statisticamente significative, suggerendo che l'approccio oncoplastico sia un approccio sicuro e affidabile per gestire i tumori al seno multifocali e multicentrici (PMID: 34613536 DOI: 10.1245/s10434-021-10800-w). Abbiamo inoltre confrontato l'esito di un approccio terapeutico con mastectomia robotica rispetto a tecniche chirurgiche classiche in pazienti con tumore al seno. In particolare, nel contesto di uno studio di fase III che ha incluso 80 donne con tumore al seno o con mutazione nel gene BRCA, abbiamo paragonato l'esito di mastectomia nipple-sparing robotica e aperta, valutando complicanze chirurgiche, qualità della vita, esito oncologico. I nostri risultati hanno evidenziato complicanze simili tra i due gruppi, dimostrando la sicurezza della tecnica robotica. Inoltre, mentre la qualità della vita era mantenuta dopo la mastectomia robotica, si riduceva significativamente dopo la chirurgia aperta (PMID: 34597010 DOI: 10.1097/SLA.0000000000004969).

Programma Ematoncologia.

Abbiamo descritto due casi clinici affetti da leucemia mieloide cronica che hanno manifestato linfoma HHV8-negativo in seguito al trattamento con Dasatinib.

Gli inibitori delle tirosin chinasi (TKIs) sono il trattamento d'elezione per la leucemia mieloide cronica (CML) BCR-ABL1-positiva. Sebbene i TKIs abbiano significativamente migliorato la prognosi dei pazienti CML, il loro utilizzo non è privo di effetti collaterali. Dasatinib è un TKI di seconda generazione

frequentemente (33% dei pazienti) associato con effusione pleurica. Ciò determina il manifestarsi di sintomi come dispnea, tosse, e dolore al petto che potrebbero richiedere l'interruzione della terapia. Abbiamo riportato due casi eccezionali di linfoma delle cellule B HHV8-negativo confinati a livello della pleura, diagnosticati in pazienti che presentavano effusione pleurica associata a dasatinib. Un paziente è vivo e in remissione a 17 mesi dalla diagnosi, mentre l'altro paziente è morto a causa della progressione della malattia e di polmonite da COVID-19 sedici mesi dopo la diagnosi. Questi casi suggeriscono la possibilità di un'associazione tra linfoma e trattamento con dasatinib. Sulla base di questi risultati raccomandiamo l'analisi citologica nei pazienti con effusione pleurica persistente/recidiva in trattamento con dasatinib, sia per approfondire le nostre conoscenze, sia per validare la sua possibile associazione con lo sviluppo del linfoma (PMID: 33672947 DOI: 10.3390/biology10020152).

Abbiamo confrontato il profilo di espressione dei microRNA di neoplasie originate da cellule dendritiche plasmacitoidi (Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm, BPDCN) con quello di cellule dendritiche plasmacitoidi (pDCs) normali e valutato l'impatto della deregolazione dei miRNA sul programma trascrizionale di BPDCN.

La BPDCN è una neoplasia ematologica rara e altamente aggressiva che origina da cellule dendritiche plasmacitoidi. I dati sul profilo di espressione genica e di miRNA sono stati integrati per ottenere un network regolatorio dei miRNA di BPDCN. Sfruttando diversi approcci molecolari abbiamo dimostrato che le cellule BPDCN up-regolano geni associati alla neurogenesi, un fenomeno che sta suscitando sempre maggiore interesse nei tumori solidi. In particolare, queste cellule up-regolano i geni mitogeni neurali possibilmente critici per la disseminazione tumorale, esprimono marcatori dei progenitori neuronali coinvolti nella migrazione cellulare, scambiano neurotrasmettitore acetilcolina, e sovraesprimono diversi recettori neurali che potrebbero stimolare la proliferazione del tumore, la migrazione e l'interazione con il sistema nervoso. Molti geni neurali up-regolati in BPDCN sono attualmente oggetto di studio come possibili target terapeutici (PMID: 34572907 DOI: 10.3390/cancers13184680).

Abbiamo identificato una firma molecolare applicabile in un contesto clinico e in grado di "rifinire" gli attuali algoritmi prognostici.

Abbiamo usato un pannello per definire l'espressione genica che combina la firma molecolare Lymph2Cx per la classificazione della cellula di origine, con geni target aggiuntivi, incluso Myc, BCL-2 e NFKBIA, in 186 pazienti. I dati sono stati validati in tre serie indipendenti. Integrando Lymph2Cx, l'espressione di Myc/BCL2 e NFKBIA, abbiamo definito una signature di 3 geni (Myc, BCL2 e NFKBIA): la signature MBN, che si è dimostrata migliore della doppia espressione Myc/BCL2 nell'analisi multivariata, e ha permesso una ulteriore stratificazione del rischio nei centri germinali delle cellule B/subset non classificato. Il

sottogruppo ad elevato rischio (MBN-high) identificava la maggioranza dei casi di linfoma double-hit ed una significativa frazione di linfomi di tipo DLBCL. Questi risultati sono stati validati in 3 serie indipendenti che includono pazienti dello studio REMoDL-B dove, in una analisi esplorativa ad hoc, l'aggiunta di bortezomib al sottogruppo MBN-high forniva un vantaggio in termini di progression-free survival rispetto alla chemioterapia standard. Questi dati indicano che una semplice firma di 3 geni basata su Myc/BCL2/NFKBIA potrebbe rifinire la stratificazione prognostica nel DLBCL e potrebbe rappresentare la base per futuri approcci di terapia di precisione (PMID: 32817282 DOI: 10.3324/haematol.2019.236455).

Abbiamo dimostrato che una terapia combinata intermittente con ciclofosfamide, inibitori dei checkpoint e vinorelbina attiva le cellule presentanti l'antigene (APC) ed arresta la crescita locale e metastatica del tumore attraverso un effetto associato alle cellule T.

Gli inibitori dei checkpoint inducono immunità antitumorale in diverse neoplasie, sebbene solo in una frazione di pazienti. Il successo clinico del trapianto di cellule staminali aploidentiche basato su ciclofosfamide indica che questo farmaco potrebbe regolare il sistema immunitario. Usando un modello di tumore al seno triplo negativo (TNBC), abbiamo condotto analisi trascrittomiche su singola cellula di cellule immunitarie intratumorali dopo terapia. I nostri risultati hanno identificato una firma molecolare che suggerisce alterazioni dovute all'esposizione ad un mitogeno, ligando o antigene specifico, così come l'adesione APC-linfocitaT. Questo programma trascrizionale aumenta anche il numero di cellule intratumorali T CD8+ Tcf1+ stem-like ed altera l'equilibrio tra cellule T terminally e progenitor-exhausted, favorendo quest'ultima. Nel complesso, i nostri dati supportano lo studio clinico di questa terapia nei pazienti con TNBC (PMID: 33268528 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-20-1818).

Programma Polmone.

Abbiamo raccolto risultati preliminari di uno studio prospettico sulla sicurezza ed efficacia di approcci robotici in pazienti con non-small-cell lung cancer (NSCLC) localmente avanzato in termini di complicanze post-operatorie ed esito oncologico.

Sebbene esistano diversi studi sulla chirurgia robotica come approccio minimamente invasivo per il trattamento dei pazienti con non-small-cell lung cancer (NSCLC), le conoscenze riguardo all'uso di questa tecnica per la malattia allo stadio III sono ancora scarse. I nostri risultati mostrano che l'esito è simile nei pazienti trattati con chirurgia robotica e in quelli trattati con chirurgia standard. Considerando i vantaggi della chirurgia minimamente invasiva, la lobectomia robot-assistita sembra essere un approccio sicuro per il trattamento dei pazienti con malattia localmente avanzata (PMID: 34441761 DOI: 10.3390/jcm10163465).

Abbiamo valutato l'efficacia del trattamento chirurgico con intento curativo in pazienti con NSCLC oligometastatico.

I pazienti con NSCLC oligometastatico rappresentano una categoria senza un approccio terapeutico standard. Tuttavia, in casi selezionati, la chirurgia radicale sembra offrire una buona prognosi. Abbiamo condotto uno studio retrospettivo volto ad analizzare gli effetti a lungo termine nei pazienti oligometastatici sincroni trattati con intento curativo, identificare i fattori associati con risultati migliori e proporre un sistema di stratificazione del rischio per classificare il NSCLC oligometastatico sincrono. I dati medici di 281 pazienti, provenienti da 18 centri, con diagnosi di NSCLC oligometastatico sincrono sono stati analizzati nel contesto di uno studio retrospettivo. I nostri risultati hanno dimostrato che il trattamento di questi pazienti con intento curativo può essere effettuato con sicurezza e a livelli di sopravvivenza a 5 anni accettabile, soprattutto in pazienti giovani con linfonodo negativo (PMID: 33610120 DOI: 10.1016/j.lungcan.2021.02.001).

Abbiamo dimostrato l'efficacia del ruolo prognostico, in termini di disease-free survival, dei valori preoperatori di HRR (rapporto tra emoglobina e distribuzione dei globuli rossi), -descritto come fattore prognostico efficace in diversi tipi di tumore- in pazienti con adenocarcinoma del tumore resecato (PMID: 33572378 DOI: 10.3390/cancers13040710).

Abbiamo valutato l'esito di pazienti con tumore del polmone a piccole cellule (SCLC) che sono stati trattati con chirurgia con intento curativo.

I nostri risultati mostrano che pazienti con SCLC allo stadio I potrebbero essere considerati i migliori candidati per la chirurgia, in un setting multidisciplinare. Invece, considerata la peggiore sopravvivenza, i pazienti di stadio II e III dovrebbero essere attentamente selezionati per l'approccio chirurgico, e dovrebbero essere invece esplorate terapie alternative (PMID: 33360438 DOI: 10.1016/j.lungcan.2020.12.006).

Abbiamo valutato l'efficacia della resezione chirurgica nei tumori polmonari neuroendocrini localmente avanzati.

I tumori neuroendocrini polmonari includono sottotipi istologici ben differenziati e poco differenziati per i quali il tipo cellulare si è rivelato determinante in termini di sopravvivenza. In pazienti diagnosticati con carcinoide bronchiale e carcinoma neuroendocrino a grandi cellule (LCNEC), la chirurgia è il trattamento d'elezione anche nel caso di malattia localmente avanzata con coinvolgimento del linfonodo. Nel contesto di uno studio retrospettivo, abbiamo analizzato 325 pazienti che hanno subito resezione del polmone per carcinoide bronchiale o LCNEC con coinvolgimento del linfonodo all'esame finale. Abbiamo confrontato la sopravvivenza nei diversi sottogruppi istologici con la sopravvivenza di pazienti in stadio I senza coinvolgimento del linfonodo. La prognosi migliore si riferisce ai pazienti con carcinoide

bronchiale e la chirurgia rimane il trattamento d'elezione per la malattia localmente avanzata e per la malattia precoce. Al contrario, le forme aggressive (LCNEC) con metastasi ai linfonodi hanno una prognosi peggiore e necessitano di un trattamento più aggressivo, con un approccio multidisciplinare (PMID: 33130114 DOI: 10.1016/j.athoracsur.2020.09.021).

Abbiamo valutato l'esito e la sicurezza della resezione della vena cava superiore nel trattamento dei tumori epiteliali timici estesi.

Nei tumori epiteliali timici di stadio 3 e 4 (TETs) l'infiltrazione della vena cava superiore (SVC) non è rara e l'estensione della resezione della SVC dipende dall'area di invasione neoplastica. Abbiamo valutato la sicurezza e l'esito a lungo termine di una timectomia estesa di TET con resezione della SVC rispetto a pazienti TET in stadio avanzato senza resezione della SVC. Nel contesto di uno studio retrospettivo, abbiamo valutato PFS e Overall Survival e abbiamo dimostrato che la resezione della SVC è una procedura sicura ed efficace per ripristinare la continuità del sistema venoso e non sembra influenzare la recidiva della malattia e la sopravvivenza. L'approccio chirurgico permette una resezione radicale dei TET localmente avanzati, anche dopo chemioterapia neoadiuvante (PMID: 33068543 DOI: 10.1016/j.athoracsur.2020.07.069).

Abbiamo dimostrato che la resezione completa è il trattamento di elezione per i tumori neurogenici intratoracici e deve essere disegnato ad hoc a seconda della dimensione del tumore, della localizzazione e dell'estensione.

I tumori neurogenici intratoracici sono neoplasie poco comuni che originano dai tessuti nervosi. Nel contesto di uno studio prospettico, abbiamo analizzato i dati clinici, chirurgici, patologici di 82 pazienti che hanno ricevuto resezione di tumori neurogenici intratoracici tra il 1998 e il 2018 ed abbiamo misurato la sopravvivenza. I nostri dati hanno dimostrato che la resezione completa è il trattamento di elezione per questi tumori e deve essere disegnato ad hoc a seconda della dimensione del tumore, della localizzazione e dell'estensione. La prognosi a lungo termine è favorevole per i tumori neurogenici benigni (PMID: 32652524 DOI: 10.1055/s-0040-1712499).

Abbiamo valutato la progressione precoce del tumore polmonare non a piccole cellule (NSCLC), caratterizzato dall'elevata espressione di PD-L1, trattato con Pembrolizumab come terapia di prima linea ed abbiamo definito un modello prognostico basato sulle caratteristiche cliniche.

Pembrolizumab è una terapia approvata per il trattamento di prima linea dei pazienti con tumore del polmone non a piccole cellule (NSCLC) metastatico, caratterizzati da un'elevata espressione di PD-L1. Nonostante i benefici osservati nella maggioranza dei pazienti, circa un terzo va incontro a progressione della malattia e morte. Ad oggi non è stato ancora esplorato l'impatto di specifici fattori clinici sulla progressione precoce del tumore. Abbiamo quindi disegnato uno studio retrospettivo, multicentrico, in

pazienti con NSCLC ed elevata espressione di PD-L1, trattati con Pembrolizumab come terapia di prima linea. Il nostro studio ha identificato sei fattori clinici indipendentemente associati con la progressione precoce della malattia. Abbiamo sviluppato un modello di score prognostico per il rischio di progressione precoce che potrebbe potenzialmente essere impiegato in un contesto clinico (PMID: 34208253 DOI: 10.3390/cancers13122935).

Abbiamo esplorato gli effetti del trattamento con Afatinib in pazienti con NSCLC e mutazioni del gene EGFR.

Studi precedenti hanno dimostrato l'efficacia di afatinib per il trattamento di pazienti con NSCLC caratterizzati da mutazioni del gene EGFR. Proseguendo su questa linea, abbiamo valutato l'effetto del trattamento con afatinib in un contesto "real-world" ed abbiamo dimostrato che la somministrazione di afatinib era ben tollerata ed efficace in pazienti NSCLC con mutazioni del gene EGFR. Gli effetti collaterali associati al trattamento erano generalmente gestibili attraverso una riduzione del dosaggio, supportando l'utilizzo di afatinib per il trattamento di questo tipo di tumori (PMID: 33387727 DOI: 10.1016/j.lungcan.2020.12.011).

Abbiamo testato l'utilizzo di campioni EBUS-TBNA (Endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration) per valutare l'espressione di PD-L1 in pazienti con NSCLC.

Il campionamento citologico EBUS TBNA è solitamente utilizzato per la diagnosi, la stadiazione e i test molecolari nei pazienti con tumore al polmone. I campioni EBUS-TBNA non sono formalmente accettati per testare l'espressione di PD-L1. Abbiamo quindi valutato la fattibilità, la riproducibilità, e l'accuratezza nel valutare l'espressione di PD-L1 in campioni citologici e istologici. La valutazione dell'espressione di PD-L1 si è rivelata simile (concordanza del 92% in 12 campioni) tra i campioni istologici e citologici. La sensibilità e l'accuratezza diagnostica dei campioni citologici era rispettivamente del 89% e 100%. I nostri risultati quindi dimostrano che la valutazione dell'espressione di PD-L1 in campioni citologici EBUS-TBNA è fattibile e riproducibile rispetto a campioni istologici di routine. Secondo i nostri dati, quindi, i campioni citologici EBUS-TBNA potrebbero essere sfruttati come approccio minimamente invasivo per valutare l'espressione di PD-L1 in pazienti con NSCLC (PMID: 34259745 DOI: 10.36416/1806-3756/e20200584).

Ricerca COVID-19.

Durante il corso del 2021 sono inoltre proseguiti i nostri studi nell'ambito della ricerca sulla COVID-19. I principali risultati sono riportati di seguito.

In collaborazione con ricercatori del CRG di Barcellona, abbiamo dimostrato che il tropismo dei virus è strettamente collegato all'abilità del virus di adattare l'utilizzo del codone – ovvero da quanto spesso una specifica sequenza di 3 nucleotidi del genoma del virus viene utilizzata per produrre un dato aminoacido – all'abbondanza specifica del tRNA nei tessuti umani (i tRNA sono specifiche molecole di RNA richieste per la traduzione di un mRNA in una proteina, traducendo la sequenza di mRNA nell'aminoacido specifico per cui codificano).

L'adattamento dell'utilizzo del codone influenza l'efficienza di traduzione delle proteine virali e la specificità ed efficienza di infezione. Infatti, ogni aminoacido può essere tradotto da diverse combinazioni di 3 nucleotidi, chiamate "codoni", che sono definite come codoni "sinonimi". Tuttavia, nonostante siano sinonimi, alcuni codoni sono più frequentemente usati di altri per produrre aminoacidi; ciò risulta in un diverso utilizzo relativo del codone. I virus infatti non infettano tutti i tipi cellulari indiscriminatamente: possono infettare in maniera specifica alcuni tipi cellulari ma non essere in grado di infettarne altri. Questa capacità infettiva selettiva è chiamata tropismo. Ad esempio, diversi lavori descrivono una infezione selettiva – tropismo – di SARS-CoV2 per specifici tessuti come le vie respiratorie superiori e gli alveoli, il tratto gastrointestinale e il cervello, con i sintomi da COVID-19 più frequentemente osservati in questi tessuti. Noi abbiamo analizzato i dati di 502 virus umani derivanti da database pubblici e hanno determinato l'"utilizzo relativo del codone": un valore che misura quanto uno specifico codone è utilizzato per produrre un aminoacido. Le nostre analisi hanno mostrato che l'utilizzo relativo del codone era associato alla preferenza dei virus umani per specifici tessuti (tropismo). Successivamente, abbiamo analizzato il profilo di espressione dei tRNA nei diversi tessuti umani, che influirebbe sulla traduzione delle proteine virali. Le analisi hanno mostrato che tessuti diversi mostrano diversi profili di espressione del tRNA, e quindi una diversa efficienza di traduzione. Abbiamo quindi applicato un approccio computazionale basato su machine learning (un random forest classifier) ai dati sull'utilizzo relativo del codone e sul profilo di espressione del tRNA: sulla base di questi dati siamo stati in grado di predire con accuratezza il tropismo di un virus per specifici tessuti umani. Tramite questo approccio, abbiamo confermato il tropismo di SARS-CoV2 per le vie respiratorie superiori e per gli alveoli, per il tratto gastrointestinale e il cervello, il che significa che il virus è meglio adattato e quindi in grado di tradurre le sue proteine in questi tessuti. Infine, abbiamo dimostrato che le proteine virali espresse all'inizio dell'infezione sono meglio adattate ai tessuti target – con l'espressione tessuto-specifica del tRNA probabilmente responsabile della selezione di specifici genomi virali (selezione traduzionale) – ottimizzando l'utilizzo del codone in relazione al profilo di espressione del tRNA, nelle fasi tardive dell'infezione inducono un reprogramming del tRNA nel tessuto ospite, al fine di favorire l'espressione delle proteine virali. I nostri dati suggeriscono la possibilità di mettere a punto delle terapie antivirali

sequenza-specifiche contro i tRNA dei tessuti ospite al fine di limitare l'infezione virale (PMID: 33730572 DOI: 10.1016/j.celrep.2021.108872).

Abbiamo valutato la sicurezza dei vaccini a mRNA in pazienti oncologici arruolati in studi clinici.

Gli studi clinici che hanno portato all'approvazione dei vaccini contro la COVID-19 non hanno incluso i pazienti oncologici, lasciando aperta la questione sulla sicurezza ed efficacia in questa categoria di pazienti. I pazienti arruolati in studi clinici ricevono trattamenti nuovi, con profili di sicurezza ed efficacia sconosciuti. Sono quindi urgenti degli studi sulla sicurezza dei vaccini contro la COVID-19 in questi pazienti. Abbiamo quindi condotto uno studio retrospettivo, in un contesto "real-world", su pazienti che hanno ricevuto trattamenti antitumorali e vaccini contro la COVID-19 in IEO tra febbraio e giugno 2021. Lo studio ha incluso 113 pazienti. Circa tre quarti dei pazienti hanno manifestato almeno un effetto collaterale dopo la prima dose (74%) e dopo la seconda (73%). La maggioranza degli effetti collaterali si verificava a livello locale mentre poco più del 30% ha manifestato effetti collaterali sistemici. Non è stato osservato nessun effetto collaterale di grado superiore a 2, dimostrando che i vaccini contro COVID-19 sono sicuri nei pazienti oncologici arruolati in studi clinici (inclusi i pazienti che stanno ricevendo terapie con nuovi farmaci). Questi dati suggeriscono quindi che tutti i pazienti oncologici dovrebbero essere vaccinati contro la COVID-19, indipendentemente dall'arruolamento in studi clinici (PMID: 34830983 DOI: 10.3390/cancers13225829).

Abbiamo effettuato uno studio prospettico per valutare il ruolo delle scuole nella seconda ondata di COVID-19 in Italia.

Abbiamo effettuato uno studio prospettico in Italia durante la seconda ondata di COVID-19 (settembre 2020-febbraio 2021) usando database del ministero dell'istruzione, dei sistemi della regione Veneto di notificazione dei casi e del sistema di tracciamento dei casi delle scuole per paragonare l'incidenza tra studenti/personale scolastico e la popolazione generale, e l'incidenza tra i diversi gruppi di età. Abbiamo osservato che l'incidenza di COVID-19 tra gli studenti era più bassa rispetto alla popolazione generale. I nostri dati quindi suggeriscono che la riapertura delle scuole non abbia avuto alcun ruolo nell'indurre la seconda ondata di COVID-19 in Italia, uno degli stati europei con elevata incidenza di casi di COVID-19 (PMID: 34104904 doi: 10.1016/j.lanepe.2021.100092).

Abbiamo riportato i risultati preliminari di uno studio osservazionale volto a valutare il decorso della malattia COVID-19 in pazienti con tumori neuroendocrini (NEN).

Abbiamo descritto le caratteristiche di 89 pazienti con tumori neuroendocrini che manifestavano sintomi gravi di malattia COVID-19. Molti pazienti avevano NEN gastroenteropancreatico metastatico di grado basso/intermedio ed erano sotto trattamento, molti di loro avevano comorbidità, solo l'8% avevano NEN di alto grado e 12% erano sotto trattamento con chemioterapia. Molti manifestavano sintomi da COVID-

19, soprattutto febbre e tosse. Di questi pazienti, solo 3 hanno avuto bisogno di ricovero in terapia intensiva, mentre molti hanno ricevuto terapie mediche, soprattutto antibiotici. Nella maggioranza dei casi non ci sono stati cambiamenti nella terapia oncologica. Oltre 80% dei pazienti si è completamente ripreso dalla malattia COVID-19, mentre 8% di essi è deceduto per COVID-19. I nostri risultati hanno quindi dimostrato che nella maggioranza dei casi i pazienti superano la malattia COVID-19 senza necessità di terapia intensiva o interruzione del trattamento oncologico (PMID: 34298375 DOI: 10.1016/j.ejca.2021.06.029).

Abbiamo valutato l'impatto della pandemia COVID-19 sulla diagnosi e sul trattamento del tumore alla vescica non invasivo.

Abbiamo effettuato un'analisi retrospettiva sfruttando un database multi istituzionale italiano di pazienti che hanno subito un intervento di resezione del tumore alla vescica (trans-urethral resection of bladder tumour, TURBT) prima e durante la pandemia, ad alto rischio di tumore invasivo, che hanno successivamente subito un secondo intervento (re-TURBT) e/o trattamento con trattamento immunoterapico intravesicale (BCG, Bacillus Calmette-Guerin). Abbiamo incluso nell'analisi 2591 pazienti da 27 centri diversi. I nostri dati dimostrano che nonostante le problematiche che il nostro sistema sanitario ha dovuto affrontare durante la pandemia, ciò non ha influenzato la qualità dei trattamenti di TURBT, sebbene si sia verificato un ritardo nei trattamenti e nella gestione della malattia (PMID: 34771440 DOI: 10.3390/cancers13215276).

Abbiamo effettuato uno studio sulla gestione dei pazienti uro-oncologici durante la pandemia COVID-19 in un hub (struttura d'eccellenza) oncologico.

I dati raccolti per valutare la visione di pazienti e professionisti sanitari sul nostro protocollo operativo forniscono evidenze al fatto che un hub oncologico durante la pandemia covid-19 rappresenta una soluzione credibile per la gestione dei pazienti uro-oncologici. Nello specifico, il trattamento chirurgico presso un centro hub di pazienti da una centro periferico è accettato di buon grado dai pazienti e dai membri dello staff ospedaliero. Inoltre, la collaborazione tra il personale sanitario dei due centri non genera particolare ansia ed è al contrario associata con migliorie scientifiche, chirurgiche e cliniche. Tuttavia, i nostri risultati sottolineano anche la necessità di un maggiore attenzione alle strategie per ridurre il rischio di contagio COVID-19 in un hub oncologico (PMID: 34278823 DOI: 10.2217/fon-2021-0145).

Nell'esercizio 2021, nell'ambito della Ricerca Clinica, sono stati approvati n. 69 studi osservazionali, n. 90 *trials* relativi a studi di fase I, II, III e IV (n. 84 nel 2020). I *trials* in corso risultano n. 699 (n. 624 nel 2020). I pazienti reclutati in *trial* sono stati n. 58.274 (n. 51.229 nel 2020).

Sono stati inoltre pubblicati n. 946 lavori scientifici (n. 811 nel 2020). I punti di *Impact Factor* sono risultati n. 8.002 (n. 5.387 nel 2020).

Attività di formazione

L'Istituto Europeo di Oncologia lavora per realizzare un modello innovativo di sanità e di ricerca avanzata nel campo dell'oncologia. Prevenzione e diagnosi, educazione sanitaria e formazione, ricerca e cura sono integrati in un modello interdisciplinare che mette al centro la persona malata. Per sostenere l'operato dei nostri professionisti, l'Istituto anche nel 2021 ha realizzato progetti di formazione continua attraverso un articolato programma di gestione e sviluppo delle competenze.

L'intensificarsi dei bisogni di cure efficaci e sostenibili e la complessità dello scenario in cui operiamo hanno determinato la necessità di investire sulle persone, attraverso una formazione continua che fornisca gli strumenti per decidere ed agire rapidamente e con efficacia. In tempi di risorse scarse, è stato fondamentale scegliere accuratamente cosa fare e come fare, per questo abbiamo riscontrato molto valida la metodologia del *problem based learning*, lavorare sulla comprensione e la soluzione dei problemi che quotidianamente impattano sulla vita professionale. Il Piano Formativo diviene quindi lo strumento di programmazione per la gestione e la valorizzazione delle risorse umane ed è rivolto a tutte le categorie professionali. Promuove lo sviluppo di ogni persona e si orienta sulle competenze indispensabili per il buon funzionamento dell'Istituto, investe sulle nuove tecnologie e sulle opportunità di scambi clinici, scientifici e assistenziali. Questo al fine di facilitare percorsi di apprendimento interdisciplinari e interprofessionali fortemente sensibili e connessi alla complessità organizzativa e all'umanizzazione delle cure.

In particolare nel 2021, l'emergenza sanitaria ci ha spronato a riprogettare la nostra offerta formativa, sfruttando le potenzialità delle tecnologie digitali, per non interrompere i corsi e continuare a essere vicini alle nostre persone.

Abbiamo garantito:

- a) i corsi di formazione sulle *soft skills*: tra cui *problem solving* strategico, *teamworking*, *decision making*, *time management*, *agile project management*, comunicazione assertiva, intelligenza emotiva, *conflict management*, *people management*, *leadership*, comunicare con il paziente oncologico e i suoi familiari e la gestione dello stress in collaborazione con il nostro team di psicologi e docenti esperti;
- b) percorsi di *coaching* mirati a sviluppare le capacità manageriali per responsabili gestionali di nuova nomina, potenziando le risorse individuali e del team;

- c) attività di Educazione Continua in Medicina, con l'accreditamento delle riunioni multidisciplinari, i journal club, le discussioni di casi clinici, la condivisione dei percorsi assistenziali, tra cui linee guida e percorsi diagnostico-terapeutici in endoscopia digestiva, journal club della divisione nuovi farmaci, staff multidisciplinare di senologia, ottimizzazione dei protocolli di tomografia computerizzata in oncologia, educazione continua in oncologia cervico facciale, la nuova norma ISO 9001 e aggiornamenti per auditor;
- d) la formazione sull'area emergenza-urgenza per i professionisti sanitari a contatto con i pazienti, che ha posto particolare attenzione alle manovre da adottare in caso di paziente COVID-19, al fine di ridurre il rischio di esposizione al virus, il conseguente contagio e l'ulteriore diffusione
- e) IEO Language Academy in un mondo sempre più internazionale e globalizzato abbiamo deciso di raccogliere la sfida della formazione linguistica e di fornire a tutte le nostre persone uno strumento innovativo per promuovere la conoscenza delle lingue, in coerenza con uno dei valori che guidano il nostro Istituto: lo Spirito Europeo. Con IEO Language Academy, non solo abbiamo la possibilità di migliorare la conoscenza della lingua inglese, ma anche quella di altre otto lingue (spagnolo, tedesco, francese, cinese, russo, olandese, portoghese e italiano per stranieri)
- f) abbiamo potenziato la nostra offerta formativa e-learning con lo sviluppo di nuovi corsi clinici e gestionali: ad es. l'identificazione e la gestione dei pazienti a rischio suicidario e autolesionismo, la sedazione procedurale, laser chirurgici, disturbi elettrolitici e cenni di trattamento, gas medicali, telemetria e gestione allarmi, l'utilizzo del nuovo glucometro, ecc.
- g) il Training Portal lo strumento digitale che abbiamo realizzato per la rilevazione dei fabbisogni formativi e la generazione dell'offerta formativa
- h) la formazione sulla Cybersecurity e Data Protection un percorso innovativo che risponde all'esigenza di rendere consapevole il personale sui rischi emergenti e sempre più pervasivi in materia di trattamento dei dati e sui comportamenti da adottare per prevenire gli attacchi informatici e dotarsi di processi operativi in linea con gli obblighi normativi, il modello organizzativo e le principali procedure e regolamenti
- i) la formazione su UpToDate l'Istituto si è dotato di questo strumento informatico a supporto delle decisioni cliniche con l'obiettivo di migliorare la qualità della vita ai malati, snellire le tempistiche, ridurre i margini di errore e accelerare la pianificazione dei trattamenti.
- Anche nel 2021 l'offerta formativa rivolta al personale si è articolata in n. 8 aree tematiche: manageriale e comportamentale, clinica, linguistica, informatica, istituzionale, normativa radioprotezione, normativa sicurezza sul lavoro e emergenza-urgenza.

Abbiamo organizzato n. 211 corsi, in modalità training on the job, e-learning e aula, di cui n. 109 accreditati ECM.

In particolare, si evidenziano n. 17 percorsi di formazione manageriale e comportamentale.

Per promuovere la cultura della sicurezza e della salute nei luoghi di lavoro e adempiere agli obblighi normativi, abbiamo realizzato n. 44 azioni formative, tra cui la formazione aggiuntiva preposti, la corretta movimentazione dei pazienti e rischi correlati alla professione e corsi online riferiti all'Accordo Stato-Regioni D.lgs. 81/08 e alle emergenze, ai gas medicali e ai laser chirurgici.

Sono stati sviluppati nuovi corsi online che hanno contribuito ad arricchire l'offerta formativa per un totale di n. 23 corsi a disposizione del personale. Il portale per la formazione e-Learning dell'Istituto completa l'offerta formativa con una serie di corsi online, riunendo qualità dei contenuti e metodologia didattica innovativa. Un ambiente virtuale di qualità e di facile navigazione che caratterizza la nuova proposta formativa FAD dell'Istituto e permette al personale di aggiornare le conoscenze ottimizzando il proprio tempo. Il catalogo dei corsi online spazia dall'area chirurgica, all'area clinica, a quella gestionale ed è costantemente arricchito con nuove tematiche, aprendosi al settore infermieristico e al mondo della chirurgia. I corsi e-learning IEO sono realizzati con i contenuti che i professionisti dell'Istituto hanno sviluppato negli anni, denotando una propensione continua verso l'innovazione e la sperimentazione, frutto di un costante confronto con le migliori pratiche dei più prestigiosi contesti scientifici nazionali e internazionali.

Nel 2021 l'Istituto ha continuato a sostenere le partecipazioni del personale ad iniziative scientifiche nazionali e internazionali per un totale di 456 richieste gestite, come relatori e partecipanti a congressi, *advisory board*, seminari e corsi fuori sede. Quest'attività è ritenuta fondamentale per stabilire scambi di esperienze e promuovere nuove collaborazioni in modo da offrire ai pazienti soluzioni diagnostiche e terapeutiche all'avanguardia.

L'obiettivo del 2021 è stato quello di realizzare programmi di formazione continua che ponessero al centro la persona con tutti i suoi bisogni, utilizzando metodologie innovative di apprendimento al fine di rafforzare e sviluppare le competenze. In tale ottica, abbiamo accompagnato il cambiamento che la pandemia ha imposto, con queste azioni:

- orientare maggiormente la formazione su competenze relazionali e comportamentali, per aiutare i nostri collaboratori ad avere capacità di assorbimento, adattamento e trasformazione della crisi;
- motivare le nostre persone disorientate dalla durata e dall'ampiezza dello shock a trovare nuove risorse interiori e a riorganizzare le attività, identificando migliori processi e priorità;

- potenziare lo scambio e il confronto quotidiano tra i diversi ruoli professionali per contribuire a un cambio di mentalità e creare team resilienti e capaci di gestire la crisi.

Lo sforzo richiesto è quello di offrire una proposta formativa nel segno dell'affidabilità, dell'innovazione e della sostenibilità a tutti i nostri collaboratori, chiamati a far fronte al lavoro, con rinnovato impegno e motivazione.

IEO Education, con la supervisione della Direzione Scientifica, ha progettato e realizzato tra gli altri:

1. Best of Asco, 19 e 20 giugno 2021
2. Breast Cancer: Oncologic and Reconstructive Surgery, 15 e 16 aprile 2021
3. III Corso Mugo: Milan Ultrasound in Gynecologic Oncology, 27 e 28 settembre 2021
4. Virtual Precetorship Melanoma: la gestione multidisciplinare del paziente con melanoma, 18 e 19 novembre 2021
5. VI giornata medico-nucleare milanese - OLTRE IL MEDICO NUCLEARE, 19 novembre 2021.

Nel 2021 ha realizzato: n. 19 eventi di cui n. 9 non accreditati ECM. Il totale delle ore di formazione erogate è stato n. 147 e il numero complessivo dei medici di medicina generale, specialisti e altri operatori sanitari che hanno partecipato agli eventi è stato n. 1.398, di cui n. 254 con crediti con un indice medio di soddisfazione degli eventi dell'88,43%.

Il totale complessivo dei crediti ECM erogati ai partecipanti è stato di n. 1730,5. Non sono stati assegnati crediti a tutor e docenti.

Relazione su ambiente e sicurezza

L'Istituto Europeo di Oncologia non produce danni ambientali per effetto della sua attività sulla base delle seguenti evidenze:

- non vengono rilasciati direttamente o indirettamente nell'ambiente rifiuti solidi o liquidi di alcun genere, sia che si tratti di rifiuti pericolosi che di rifiuti non pericolosi. I rifiuti vengono raccolti in modo differenziato nei reparti e nei servizi ove vengono prodotti e sono prelevati da aziende specializzate e autorizzate per la loro gestione (recupero o smaltimento a seconda delle tipologie di rifiuto), in conformità alle vigenti leggi. Per la complessità del processo, dal 2011 la Direzione Sanitaria ha implementato un Sistema di Gestione della Qualità (dal 2018 certificato in accordo con la Norma ISO 9001:2015) che fornisca garanzia che il processo di gestione dei rifiuti sanitari sia conforme ai requisiti di sicurezza e sorveglianza guidati da un comportamento etico;

- non vengono rilasciati nell'ambiente rifiuti solidi o liquidi radioattivi. I rifiuti radioattivi a breve tempo di dimezzamento vengono raccolti in apposite aree controllate e smaltiti soltanto una volta accertata l'assenza di radioattività al di sopra dei limiti stabiliti dalla legge. I rifiuti radioattivi a più lungo tempo di decadimento sono smaltiti tramite azienda autorizzata. Il processo avviene sotto il controllo della Fisica Sanitaria e dell'Esperto di Radioprotezione;
- nei laboratori dell'Istituto i reflui potenzialmente pericolosi vengono raccolti separatamente in appositi contenitori e smaltiti come rifiuti speciali, in accordo con le prescrizioni interne e le vigenti normative in materia;
- dalle attività cliniche, di ricerca e di produzione farmaci chemioterapici non vengono emesse in atmosfera sostanze pericolose per l'ambiente o per la salute e sicurezza degli esseri viventi;
- sui fumi della centrale termica vengono praticati, con la dovuta periodicità, i controlli previsti dalle leggi in vigore.

Nel corso del 2021 non sono state segnalate all'Istituto non-conformità o infrazioni alle leggi da parte degli organi delegati alla sorveglianza ambientale.

Con riferimento alla bonifica avviata nel 2020 sui terreni acquisiti in Via Ripamonti 406-426, sono proseguite le attività concordate con gli Enti competenti.

Nel corso dell'esercizio nella medesima area è stato predisposto un impianto di Soil Vapor Extraction (SVE), mediante la realizzazione di pozzi di aspirazione per la rimozione dei vapori presenti nel terreno, che vengono estratti e trattati mediante un apposito impianto installato in situ. Tale impianto unitamente a quello di P&T, in funzione dall'agosto 2020, rientra nelle attività di Messa in Sicurezza d'Emergenza (Mise) dell'area.

In conformità all'Iter di procedura ordinaria di bonifica ai sensi del D.Lgs. 152/2006, in data 6 maggio 2021 è stato trasmesso il Piano di Caratterizzazione agli Enti Competenti che, a seguito di apposita conferenza dei servizi, hanno autorizzato lo stesso in luglio 2021. A settembre 2021 si è quindi provveduto ad effettuare le indagini previste in contraddittorio con Arpa il cui esito sarà trasmesso nei primi mesi del 2022. A seguire, saranno messi in atto tutti i successivi adempimenti previsti dalla norma vigente in materia, ovvero chiusura iter Piano di Caratterizzazione, presentazione dell'Analisi di Rischio e in fine Progetto di Bonifica (acque di falda).

Nel 2021, sempre in riferimento al possibile sviluppo immobiliare, negli ulteriori terreni coinvolti, ovvero quelli siti in via Ripamonti tra i civici 424 e 406, sono state effettuate verifiche analitiche finalizzate alla valutazione dello stato di qualità delle matrici riporti e terreni, a completamento di quella già svolta

sulla matrice acque sotterranee. Tali indagini preliminari, svolte in quanto il possibile sviluppo immobiliare deve essere realizzato su terreni classificati in tabella A (All. 5, Tit. V, P. Quarta, D.Lgs. n. 152 del 03.04.06 (S.O. n. 96 alla G.U. n. 88 del 14/04/06)), ovvero conforme per destinazioni d'uso assimilabile al "residenziale" (come quella ospedaliera), hanno permesso di evidenziare una potenziale contaminazione nei terreni di riporto presenti su tutta l'estensione delle aree.

Per tale motivo, l'Istituto ha proceduto con una ulteriore comunicazione agli Enti Competenti ai sensi dell'art. 245 del D.Lgs. 152/2006 in qualità di proprietario non colpevole, comunicando altresì l'intenzione dell'Istituto a provvedere al ripristino ambientale dell'area in oggetto mediante una procedura semplificata di bonifica ai sensi dell'art. 242-bis del D.Lgs. 152/2006. Risulta in corso di redazione il dovuto Progetto di Bonifica (terreni) che sarà presentato entro il primo semestre del 2022.

Tutte le fasi degli interventi previsti, nei procedimenti sopra descritti, saranno eseguite in accordo con gli Enti Competenti e nel rispetto delle procedure previste dall'art. 242 (Titolo V della parte IV) del D.Lgs. 152/06.

Protezione dei dati personali

L'Istituto in ottemperanza alla normativa vigente in materia di protezione dati personali (regolamento UE 2016/679 e D.lgs. 196/03 integrato dal D.lgs. 101/2018) si è dotato di uno specifico modello organizzativo che prevede la presenza di un "Comitato Data Protection", un "Data Protection Officer" e un Responsabile Sicurezza dei Sistemi Informativi

Di seguito le principali attività svolte nell'ultimo esercizio:

- ✓ Potenziamento della sicurezza dell'infrastruttura tecnologica IT per far fronte alle nuove minacce sulla cyber security;
- ✓ Potenziamento delle attività di formazione con focus specifico anche sulla cyber security;
- ✓ Miglioramento sinergie con ufficio acquisti per monitoraggio contratti con fornitori di servizi al fine di eventuali nomine quali Responsabili trattamento dati personali se la loro attività prevede utilizzo di dati personali di pazienti o di professionisti;
- ✓ Miglioramento della valutazione dei progetti di ricerca anche sotto il profilo dei rischi in ambito data protection nell'ambito dell'iter standardizzato per i progetti di ricerca dell'Istituto, che consente di rispettare la normativa e al contempo di rendere più efficienti e sostenibili i processi. Nello specifico è stato prodotto il Regolamento per l'utilizzo di dati personali e i Campioni Biologici per la Ricerca Scientifica e l'Accordo di Partecipazione alla Ricerca Scientifica "accordo

madre" da sottoporre a tutti i pazienti IEO; quest'ultimo è stato inserito in W-Hospital (software per la gestione elettronica della cartella clinica). Per ogni progetto di ricerca è previsto sia un registro dei trattamenti che una valutazione dei rischi.

Tutte le attività svolte sono tracciabili e documentabili.

Sedi secondarie

L'Istituto, che ha sede legale in Via Filodrammatici n. 10 a Milano, opera nelle sedi di Milano di Via Ripamonti n. 435 dove si trova la struttura ospedaliera, di Via San Luca n. 10 dove è ubicato il poliambulatorio IEO Centro, di Via Serio (sede del Campus IFOM-IEO), di via Ripamonti, 426 sede di IEOOffice, di Via Lampedusa 13 sede del corso di laurea in infermieristica, di Opera sede del corso di laurea dei Tecnici di radiologia.

Rischi ed incertezze

Per il particolare settore in cui opera, a maggior ragione nell'attuale momento di crisi economica e finanziaria, la Vostra Società è soggetta ai seguenti rischi:

Rischi connessi alla normativa di riferimento ed alla dipendenza dal settore pubblico

La Società opera in un settore ampiamente regolato da norme impositive in termini di volumi di ricavi assoggettati a rimborsi da parte del SSN, che comportano conseguenti rischi in termini di redditività operativa. Ciò comporta che le possibilità di mantenimento e crescita delle attività e della redditività delle stesse sono fortemente condizionate dagli impianti normativi imposti dagli enti regolatori. Va sottolineato, in ultimo, che i cambiamenti delle regole di attività e finanziamento degli erogatori, di possibile introduzione da parte di Regione Lombardia nell'imminenza dei nuovi esercizi, possono comportare rettifiche anche in difetto delle tariffe prestazionali riconosciute, con effetti di scostamento del fatturato di produzione verso il *budget* assegnato.

Rischi connessi alla dipendenza dal settore pubblico

Tale settore rappresenta oltre il 65,0% del fatturato clinico dell'Istituto. Un'eventuale riduzione della capacità di spesa da parte della Pubblica Amministrazione potrebbe quindi incidere negativamente sulle possibilità di crescita e sui risultati economico finanziari dell'Istituto.

A ciò si aggiunga che il momento di grave crisi economica e finanziaria rende possibile un ulteriore allungamento dei termini di pagamento da parte degli enti pubblici.

Rischio credito

Il rischio di concentrazione di crediti con caratteristiche di criticità è moderato e monitorato, con riferimento alla categoria di beni/servizi, per cliente/importo. Sulla base di quanto avvenuto in passato, il rischio è per altro più sull'allungamento dei tempi di pagamento in particolare da parte degli istituti assicurativi che non sul rischio di insolvenza, che pare mantenersi ancora limitato.

Rischio liquidità

La Società presenta attualmente una struttura finanziaria che non evidenzia rischi di crisi di liquidità, avendo una posizione attiva di liquidità nei confronti del sistema creditizio, oltre ad affidamenti non utilizzati. La liquidità viene investita con caratteristiche di rischio e di oscillazioni molto contenute, facilmente smobilizzabili e con controparti istituzionali primarie.

Rischio di cambio e rischio di tasso di interesse

La Società non è soggetta al rischio di mercato derivante dalla fluttuazione dei cambi delle valute perché opera in un contesto nazionale in cui le transazioni sono condotte in euro.

Rischio connesso alla fornitura di beni

I rischi di prezzo e di fornitura connessi ai materiali di consumo ed alle attrezzature varie e specifiche vengono monitorati per il tramite di adeguate *policies* interne che ne regolano gli acquisti.

Rischi legali

Nonostante il rispetto della normativa di riferimento, l'Istituto potrebbe essere esposto al rischio di richieste risarcitorie a seguito di danni causati su propri pazienti. Per far fronte a tali responsabilità l'Istituto ha in essere coperture assicurative il cui massimale è ritenuto adeguato e costantemente monitorato.

Rischi di *compliance*

Con riferimento in particolare al D.L. 219/2006 ed al D.L. 231/2001, la Società si è dotata di un Codice Etico, di un Modello Organizzativo e di un insieme di *policies* e procedure, su cui è erogata continua formazione mirata a garantire l'aggiornamento sulla tematica in oggetto di tutti i collaboratori interessati e di cui è verificata costantemente la corretta applicazione.

Posizione Fiscale

Alla data di redazione del presente documento non sono stati notificati accertamenti di natura fiscale.

Segnaliamo che sono scaduti i termini di accertamento ai fini delle imposte dirette e dell'iva fino all'anno 2016 compreso.

Nel febbraio del 2013 l'Istituto ha presentato istanza di interpello all'Agenzia delle Entrate per la richiesta di dimezzamento dell'aliquota IRES; nel giugno dello stesso anno l'Agenzia ha previsto la possibilità di usufruire della riduzione IRES limitatamente all'imponibile fiscale generato dalle prestazioni di ricovero e ambulatoriali rese in regime di convenzionamento e dall'attività di ricerca scientifica traslazionale. Nel giugno del 2014 è stata presentata una nuova istanza di interpello, con la quale l'Istituto ha proposto all'Agenzia un criterio oggettivo per la determinazione di tali imponibili; nell'ottobre 2014 l'Agenzia ha confermato il metodo di ripartizione forfettaria dell'imponibile basato sulla composizione percentuale del fatturato riferibile all'attività agevolata (attività sanitaria convenzionata e ricerca scientifica traslazionale) rispetto al totale dello stesso.

Quote proprie

Al 31.12.2021 la Società non possedeva quote proprie, né ha proceduto ad acquisti o ad alienazioni nel corso dell'esercizio.

Rapporti con le società del Gruppo

Al 31.12.2021 i rapporti con la controllata Centro Cardiologico Monzino S.p.A. (società per la quale l'Istituto Europeo di Oncologia esercita attività di direzione e coordinamento), sono relativi prevalentemente a prestazioni di servizi amministrativi e clinici, come illustrato in Nota Integrativa e sono regolati a condizioni di mercato.

Di seguito si forniscono le informazioni relative alle poste infragruppo, in migliaia di Euro:

	Verso controllate
Debiti per operazioni di Cash Pooling	12.501
Debiti per servizi infragruppo	110
Crediti per servizi infragruppo	167
Costi per prestazioni cliniche	133
Costi per servizi infragruppo	104
Costi per interessi passivi sul Cash Pooling	53
Ricavi per prestazioni cliniche	167
Ricavi per prestazioni di servizi	1.333

Fatti di rilievo intervenuti dopo la chiusura dell'esercizio

L'emergenza COVID-19, che ha comportato un rilevante sforzo organizzativo, economico ed anche psicologico nel 2020 e 2021, sembra gradualmente ridursi, grazie anche all'imponente campagna di vaccinazione. Pertanto il relativo impegno per la struttura ed il personale proseguirà ma auspicabilmente con minore intensità.

L'incremento rilevante del costo dell'energia, prima a motivo della ripresa economica internazionale al ridursi della pandemia e successivamente a motivo del conflitto bellico in Europa Orientale, potrà avere effetto sui costi operativi che i fornitori cercheranno di ribaltare sui clienti, fra i quali l'Istituto Europeo di Oncologia. L'Istituto ha un contratto per la fornitura di energia a prezzi fissati nel 2021 per la quasi totalità del 2022 e parte del 2023, tuttavia è già iniziata una valutazione interna ed esterna delle opzioni per la gestione dei costi dell'energia per il 2023.

Evoluzione prevedibile della gestione

Continuerà l'impegno dell'Istituto nel perseguimento dell'eccellenza nell'area Clinica, della Ricerca, della Formazione, nell'attenzione verso la centralità del paziente e tutto ciò in un contesto economico incerto e normativo imprevedibile.

Sarà mantenuta la massima attenzione all'avanzamento dei significativi progetti immobiliari ed operativi in corso, compatibilmente con i tempi delle necessarie autorizzazioni.

L'Istituto metterà in atto ogni azione al fine di raggiungere una maggiore efficienza del sistema e ciò sia con una continua attenzione al controllo dei costi ed alla generazione di liquidità, sia con nuovi investimenti in professionisti e mezzi tecnici capaci di ampliare in senso qualitativo e quantitativo, l'offerta complessiva dell'Istituto.



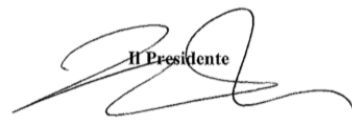
Il Bilancio è stato redatto sulla base del presupposto della continuità dell'attività sociale.



Signori, nel raccomandarVi l'approvazione del seguente bilancio, che presenta un utile di esercizio pari ad € 2.202.502 Vi proponiamo di destinare l'utile, come previsto dall'art. 26 dello statuto, alla riserva legale per € 220.250 ed al Fondo ricerca e sviluppo per € 1.982.252.

In conclusione, desideriamo altresì manifestare a tutto il personale dell'Istituto il nostro più vivo ringraziamento per l'impegno e la competenza ancora una volta dimostrati nell'espletamento dei propri incarichi e per l'attenzione e l'umanità rivolte nei confronti dei nostri pazienti.

p. il Consiglio di Amministrazione

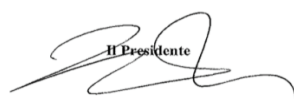


Il Presidente

Stato patrimoniale

Pag. 1/5

	31.12.2021	31.12.2020
	€	€
A) Crediti verso soci per versamenti ancora dovuti	0	0
B) Immobilizzazioni		
<i>I Immateriali</i>		
3 Diritti brevetto industriale e diritti utilizzazione delle opere dell'ingegno	0	0
4 Concessioni, licenze, marchi e diritti simili	2.512.257	2.269.461
6 Immobilizzazioni in corso e acconti	658.842	632.587
7 Altre	611.490	825.946
Totale immobilizzazioni immateriali	3.782.589	3.727.994
<i>II Materiali</i>		
1 Terreni e fabbricati	24.259.898	25.599.938
2 Impianti e macchinario	9.312.984	8.041.259
3 Attrezzature industriali e commerciali	24.513.247	24.153.179
4 Altri beni	3.855.761	3.625.384
5 Immobilizzazioni in corso e acconti	20.732.460	18.614.654
Totale immobilizzazioni materiali	82.674.350	80.034.414
<i>III Finanziarie</i>		
1 Partecipazioni in:		
a) Imprese controllate	58.068.067	57.803.558
b) Imprese collegate	0	0
c) Imprese controllanti	0	0
d-bis) Altre imprese	684.728	298.291
Totale partecipazioni	58.752.795	58.101.849
2 Crediti		
d-bis) Verso Altri	1.016.913	1.027.284
Totale crediti	1.016.913	1.027.284
3 Altri titoli		
Totale altri titoli	0	0
Totale immobilizzazioni finanziarie	59.769.708	59.129.133
Totale immobilizzazioni	146.226.647	142.891.541

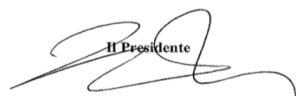


Il Presidente

Stato patrimoniale

Pag. 2/5

ATTIVO (seguito)		31.12.2021	31.12.2020
		€	€
C) Attivo circolante			
<i>I Rimanenze</i>			
1	Materie prime, sussidiarie e di consumo	8.410.815	8.980.306
<i>Totale rimanenze</i>		8.410.815	8.980.306
	Beni destinati alla vendita	60.000	0
<i>II Crediti</i>			
1	Verso clienti	48.051.989	32.863.041
2	Verso imprese controllate	167.250	237.045
3	Verso imprese collegate	0	0
4	Verso controllanti	0	0
5-bis	Crediti tributari	1.492.737	908.347
5-ter	Imposte anticipate	2.794.441	3.114.212
5-quater	Verso altri	1.542.177	2.038.536
<i>Totale crediti</i>		54.048.594	39.161.181
<i>III Attività finanziarie che non costituiscono immobilizzazioni</i>			
6	Altri titoli	0	0
<i>Totale attività finanziarie che non costituiscono immobilizzazioni</i>		0	0
<i>IV Disponibilità liquide</i>			
1	Depositi bancari e postali	46.314.110	51.208.262
3	Denaro e valori di cassa	151.215	84.487
<i>Totale disponibilità liquide</i>		46.465.325	51.292.749
Totale attivo circolante		108.984.734	99.434.236
D) Ratei e risconti			
	Ratei attivi	2.493.178	2.287.993
	Risconti attivi	1.678.572	1.730.055
Totale Ratei e risconti		4.171.750	4.018.048
TOTALE ATTIVO		259.383.131	246.343.825

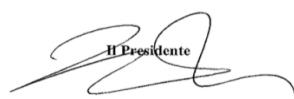


Il Presidente

Stato patrimoniale

Pag. 3/5

PASSIVO		31.12.2021	31.12.2020
		€	€
A) Patrimonio netto			
I	Capitale	80.579.007	80.579.007
IV	Riserva legale	7.489.374	7.409.764
V	Riserve statutarie: Fondo ricerca e sviluppo	46.213.850	45.497.356
VIII	Utili (perdite) portati a nuovo	0	0
IX	Utile (perdita) dell'esercizio	2.202.502	796.104
Totale patrimonio netto		136.484.733	134.282.231
B) Fondi per rischi e oneri			
2	Per imposte differite	529.989	535.392
4	Altri	9.115.914	7.773.707
Totale fondi per rischi e oneri		9.645.903	8.309.099
C) Trattamento fine rapporto di lavoro subordinato		5.232.975	5.215.605
D) Debiti			
7	Debiti verso fornitori	49.587.060	41.925.688
9	Debiti verso imprese controllate	12.611.489	13.889.766
10	Debiti verso imprese collegate	0	0
11	Debiti verso controllanti	0	0
12	Debiti tributari	4.037.351	2.857.692
13	Debiti verso istituti di previdenza e di sicurezza sociale	4.435.657	3.968.212
14	Altri debiti	16.376.681	14.378.746
Totale debiti		87.048.238	77.020.104
E) Ratei e risconti			
Ratei passivi		60.000	60.000
Risconti passivi		20.911.282	21.456.786
Totale ratei e risconti		20.971.282	21.516.786
TOTALE PASSIVO		259.383.131	246.343.825

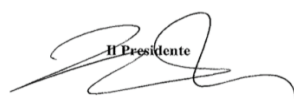


Il Presidente

Conto economico

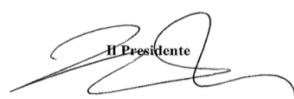
Pag. 4/5

	31.12.2021	31.12.2020
	€	€
A) Valore della produzione		
1 Ricavi delle vendite e delle prestazioni	207.867.986	180.254.302
5 Altri ricavi e proventi:		
- Contributi per programmi di ricerca	27.123.570	24.899.388
- Proventi diversi	23.382.284	20.954.090
	50.505.854	45.853.478
Totale valore della produzione	258.373.840	226.107.780
B) Costi della produzione		
6 Per materie prime, sussidiarie, di consumo e merci	62.340.716	52.237.261
7 Per servizi	59.498.507	53.730.498
8 Per godimento di beni di terzi	6.741.309	6.792.740
9 Per il personale		
a) salari e stipendi	71.815.966	65.248.514
b) oneri sociali	15.725.293	15.076.582
c) trattamento di fine rapporto	3.810.992	3.576.550
e) altri costi	41.746	30.936
	91.393.997	83.932.582
10 Ammortamenti e svalutazioni		
a) ammortamento delle immobilizzazioni immateriali	1.506.699	1.359.493
b) ammortamento delle immobilizzazioni materiali	9.786.182	9.817.507
d) svalutazione dei crediti compresi nell'attivo circolante e delle disponibilità liquide	1.373.203	710.614
	12.666.084	11.887.614
11 Variazioni delle rimanenze di materie prime, sussidiarie, di consumo e merci + (-)	569.491	249.011
12 Accantonamenti per rischi	4.877.866	4.671.163
13 Altri accantonamenti	0	0
14 Oneri diversi di gestione	17.453.314	17.159.471
Totale costi della produzione	255.541.284	230.660.340
Differenza tra valore e costi della produzione (A-B)	2.832.556	(4.552.560)



Il Presidente

	Conto economico	
	31.12.2021	Pag. 5/5 31.12.2020
	€	€
C) Proventi e oneri finanziari		
15 Proventi da partecipazioni		
- dividendi ed altri da imprese controllate	0	0
- dividendi ed altri da altre imprese	167.007	0
	<u>167.007</u>	<u>0</u>
16 Altri proventi finanziari		
b) da titoli iscritti nelle immobilizzazioni che non costituiscono partecipazioni	0	0
c) da titoli iscritti nell'attivo circolante che non costituiscono partecipazioni	0	4.581
d) proventi diversi dai precedenti		
- interessi e commissioni da altri e proventi vari	28.220	10.102
	<u>28.220</u>	<u>14.683</u>
17 Interessi ed altri oneri finanziari		
- imprese controllate	52.727	59.757
- altri	124.745	156.814
	<u>177.472</u>	<u>216.571</u>
17bis) Utili e (perdite) sui cambi	<u>(17.798)</u>	<u>(18.824)</u>
Totale proventi e oneri finanziari + (-)	(43)	(220.712)
D) Rettifiche di valore di attività e passività finanziarie		
18 Rivalutazioni		
a) di partecipazioni	650.947	2.338.905
	<u>650.947</u>	<u>2.338.905</u>
19 Svalutazioni		
a) di partecipazioni	0	46.668
c) di titoli iscritti nell'attivo circolante che non costituiscono partecipazioni	0	0
	<u>0</u>	<u>46.668</u>
Totale delle rettifiche + (-)	650.947	2.292.237
Risultato prima delle imposte + (-)	3.483.460	(2.481.035)
20 Imposte sul reddito dell'esercizio, correnti, differite e anticipate		
- Imposte correnti	966.590	(171.173)
- Imposte differite, anticipate	314.368	(3.105.966)
Totale imposte sul reddito es., correnti, differite, anticipate	1.280.958	(3.277.139)
21 Utile (perdita) dell'esercizio	2.202.502	796.104


 Il Presidente

Rendiconto Finanziario		2021	2020
A. FLUSSI FINANZIARI DERIVANTI DALLA GESTIONE REDDITUALE (metodo indiretto)			
	Utile (perdita) dell'esercizio	2.202.502	796.104
	Imposte sul reddito	1.280.958	(3.277.139)
	Interessi passivi/(interessi attivi)	43	220.712
	(Dividendi)	0	0
	Insussistenze derivanti dalla cessione di attività	0	0
	1. Utile (perdita) dell'esercizio prima d'imposte sul reddito, interessi, dividendi e plus/minusvalenze da cessione	3.483.503	(2.260.323)
Rettifiche per elementi non monetari che non hanno avuto contropartita nel capitale circolante netto			
	Accantonamenti ai fondi	10.062.061	8.958.327
	(Ripristini)/perdite di valore delle immobilizzazioni	(650.947)	(2.338.905)
	Ammortamenti delle immobilizzazioni	11.292.881	11.177.000
	Svalutazioni per perdite durevoli di valore	0	46.668
	2. Flusso finanziario prima delle variazioni del ccn	20.703.995	17.843.090
Variazioni del capitale circolante netto			
	Decremento/(incremento) delle rimanenze	569.491	249.011
	Decremento/(incremento) dei crediti verso clienti	(15.119.153)	23.700.728
	Incremento/(decremento) dei debiti verso fornitori	7.702.919	(10.678.322)
	Decremento/(incremento) ratei e risconti attivi	(153.702)	(90.833)
	Incremento/(decremento) ratei e risconti passivi	(545.504)	9.187.565
	Altre variazioni del capitale circolante netto	2.546.193	(5.376.329)
	3. Flusso finanziario dopo le variazioni del ccn	(4.999.756)	16.991.820
Altre rettifiche			
	Interessi incassati/(pagati)	(43)	(220.712)
	(Imposte sul reddito pagate)	0	0
	Dividendi incassati	0	0
	Utilizzo dei fondi	(8.707.887)	(8.495.644)
	4. Flusso finanziario dopo le altre rettifiche	(8.707.930)	(8.716.356)
Flusso finanziario della gestione reddituale (A)			
		10.479.812	23.858.231

Rendiconto Finanziario	2021	2020
FLUSSI FINANZIARI DERIVANTI DALL'ATTIVITÀ		
B. D'INVESTIMENTO		
Immobilizzazioni materiali	(12.426.118)	(17.611.265)
(Investimenti)	(12.426.118)	(17.611.265)
Prezzo di realizzo disinvestimenti	0	0
Immobilizzazioni immateriali	(1.561.294)	(986.498)
(Investimenti)	(1.561.294)	(986.498)
Prezzo di realizzo disinvestimenti	0	0
Immobilizzazioni finanziarie	0	0
(Investimenti)	0	0
Prezzo di realizzo disinvestimenti	0	0
Attività finanziarie non immobilizzate	0	507.133
(Investimenti)	0	0
Disinvestimenti	0	507.133
Flusso finanziario dell'attività di investimento (B)	(13.987.412)	(18.090.630)
FLUSSI FINANZIARI DERIVANTI DALL'ATTIVITÀ DI		
C. FINANZIAMENTO		
Mezzi propri	0	0
Cash pooling – controllata	(1.319.824)	13.821.047
Dividendi (e acconti su dividendi) pagati		
Flusso finanziario dell'attività di finanziamento (C)	(1.319.824)	13.821.047
Incremento (decremento) delle disponibilità liquide (a ± b ± c)	(4.827.424)	(2.430.710)
Disponibilità liquide al 1 gennaio	51.292.749	31.704.101
Depositi bancari e postali	51.208.262	31.604.822
Denaro e valori di cassa	84.487	99.279
Disponibilità liquide al 31 dicembre	46.465.325	51.292.749
Depositi bancari e postali	46.314.110	51.208.262
Denaro e valori di cassa	151.215	84.487



Il Presidente

Istituto Europeo di Oncologia S.r.l.

Sede Legale in Milano – Via Filodrammatici, n. 10

Capitale Sociale Euro 80.579.007 i.v.

Registro delle Imprese di Milano n. 08691440153

Codice Fiscale e Partita IVA n. 08691440153

NOTA INTEGRATIVA

Il bilancio di esercizio al 31 dicembre 2021 è stato redatto in conformità alla normativa del Codice Civile, interpretata ed integrata dai principi e criteri contabili elaborati dall'Organismo Italiano di Contabilità (O.I.C.) ed infine, ove mancanti e in quanto non in contrasto con le norme e i principi contabili italiani, da quelli emanati dall'*International Accounting Standard Board* (I.A.S.B.).

Il bilancio è stato predisposto nel presupposto della continuità aziendale, non sussistendo incertezze significative a riguardo.

Il bilancio d'esercizio è costituito dallo Stato Patrimoniale, dal Conto Economico, dal Rendiconto Finanziario (redatti in conformità agli schemi rispettivamente di cui agli artt. 2424, 2424 bis c.c., agli artt. 2425 e 2425 bis c.c. e all'art. 2425 ter del Codice Civile) e dalla presente Nota Integrativa.

La Nota Integrativa ha la funzione di fornire l'illustrazione, l'analisi ed in taluni casi un'integrazione dei dati di bilancio e contiene le informazioni richieste dagli artt. 2427 e 2427 bis del Codice Civile, da altre disposizioni del Codice Civile in materia di bilancio e da altre leggi precedenti. Inoltre, in essa sono fornite tutte le informazioni complementari ritenute necessarie a dare la rappresentazione più trasparente e completa, anche se non richieste da specifiche disposizioni di legge.

Gli importi sono espressi in unità di Euro, salvo diversa indicazione.

E' proseguita, pur con minore carico di lavoro rispetto al 2020, anche l'attività dell'Istituto fra gli "hub" oncologici lombardi, con il compito di accogliere e fornire terapie a pazienti con questa patologia provenienti da altri Istituti, i quali hanno potuto quindi dedicare maggiori risorse ai pazienti dell'area infettiva. I costi della gestione COVID-19 (quali tamponi, DPI, servizi specifici) sono rimasti significativi pur in presenza di elementi positivi di reddito (quali le erogazioni della Fondazione IEO - Monzino) mentre gli investimenti specifici sono scesi sensibilmente. I rimborsi per i costi relativi alla gestione interna COVID-19, pur delineati dal punto di vista legislativo, non sono inseriti nella proposta di Bilancio, a motivo dell'incertezza sul criterio di calcolo e sul suo ammontare per il 2021; inoltre tali rimborsi - denominati "ristori" - per il 2020 sono stati destinati agli Istituti che non hanno raggiunto il 90% del

valore del “tetto” Regionale di prestazioni mentre l'Istituto ha superato il 100% di tale limite (come anche nel 2021).

In generale, per l'Istituto la gestione complessiva COVID-19 ha continuato a comportare un importante sforzo organizzativo, economico e professionale su tutta la struttura, pur con impatto in riduzione grazie anche alla massiccia campagna di vaccinazioni e alla disponibilità di DPI mancata nel 2020,

Fatti di rilievo intervenuti dopo la chiusura dell'esercizio

L'emergenza COVID-19, che ha comportato un rilevante sforzo organizzativo, economico ed anche psicologico nel 2020 e 2021, sembra gradualmente ridursi, grazie anche all'imponente campagna di vaccinazione. Pertanto il relativo impegno per la struttura ed il personale proseguirà ma auspicabilmente con minore intensità.

L'incremento rilevante del costo dell'energia, prima a motivo della ripresa economica internazionale al ridursi della pandemia e successivamente a motivo del conflitto bellico in Europa Orientale, potrà avere effetto sui costi operativi che i fornitori cercheranno di ribaltare sui clienti, fra i quali l'Istituto Europeo di Oncologia. L'Istituto ha contratti per la fornitura di energia a prezzi fissati nel 2021 per la quasi totalità del 2022 ed è già iniziata una valutazione interna ed esterna delle opzioni per la gestione futura dei costi dell'energia.

PRINCIPI CONTABILI E CRITERI DI VALUTAZIONE

I principi contabili di seguito riportati sono stati adeguati con le modifiche, integrazioni e novità introdotte alle norme del Codice Civile dal D.lgs. 139/2015, che ha recepito in Italia la Direttiva contabile 34/2013/UE. In particolare, i principi contabili nazionali sono stati riformulati dall'OIC nella versione emessa il 22 dicembre 2016.

Inoltre, in data 29 dicembre 2017, l'Organismo Italiano di Contabilità ha emanato ulteriori emendamenti ai principi sulla composizione e schemi del bilancio d'esercizio, imposte sul reddito, rimanenze, immobilizzazioni materiali, immobilizzazioni immateriali, bilancio consolidato e metodo del patrimonio netto, debiti, partecipazioni, cambiamenti di principi contabili, cambiamenti di stime contabili, correzione di errori, fatti intervenuti dopo la data di chiusura dell'esercizio, e strumenti finanziari derivati.

Segnaliamo infine che, a decorrere dall'esercizio chiuso al 31 dicembre 2018 la Società ha provveduto a capitalizzare la quota parte di costo relativa all'IVA indetraibile sull'acquisto delle immobilizzazioni materiali ed immateriali nei limiti del corrispondente valore di mercato o del valore recuperabile tramite

l'uso.

Immobilizzazioni immateriali

Sono iscritte al costo di acquisto o di produzione, inclusivo di IVA per la parte indetraibile che rimane a carico dell'Istituto, degli oneri accessori e dei costi direttamente imputabili al prodotto ed ammortizzate sistematicamente in ogni esercizio a quote costanti, in relazione con la loro residua possibilità di utilizzazione. Le immobilizzazioni immateriali sono iscritte con il consenso del Collegio Sindacale nei casi previsti dalla legge.

I costi di pubblicità e di ricerca sono interamente imputati a costo di periodo nell'esercizio in cui sono sostenuti.

Le migliorie su beni di terzi sono capitalizzate ed iscritte tra le "altre immobilizzazioni immateriali" se non sono separabili dai beni stessi (altrimenti sono iscritte tra le "immobilizzazioni materiali" nella specifica voce di appartenenza) e sono ammortizzate in modo sistematico al minore tra il periodo di prevista utilità futura e quello residuo della locazione, tenuto conto dell'eventuale periodo di rinnovo, se dipendente dalla Società.

Nel caso in cui, indipendentemente dall'ammortamento già contabilizzato, risulti una perdita durevole di valore, l'immobilizzazione viene corrispondentemente svalutata; se in esercizi successivi vengono meno i motivi che avevano giustificato la svalutazione, viene ripristinato il valore originario, nei limiti del valore che l'attività avrebbe avuto ove la rettifica di valore non avesse mai avuto luogo, eccezion fatta per la voce "Avviamento" ed "Oneri pluriennali" di cui al numero 5 dell'art. 2426 del Codice Civile.

Immobilizzazioni materiali

Sono iscritte al costo di acquisto o di costruzione interna, al netto degli ammortamenti effettuati nell'esercizio e nei precedenti. Nel costo sono compresi gli oneri accessori e i costi diretti e indiretti per la quota ragionevolmente imputabile al bene, relativi al periodo di fabbricazione e fino al momento dal quale il bene può essere utilizzato, oltre l'IVA per la parte indetraibile che rimane a carico della Società. Le immobilizzazioni materiali possono essere rivalutate solo nei casi in cui leggi speciali lo richiedano o lo permettano.

Le immobilizzazioni sono sistematicamente ammortizzate in ogni esercizio a quote costanti sulla base delle aliquote previste dalla normativa fiscale, ritenute rappresentative della residua possibilità di utilizzo

dei beni. Le aliquote applicate sono riportate nella sezione relativa alle note di commento dell'attivo. Per le immobilizzazioni entrate in funzione nell'esercizio le aliquote sono ridotte al 50%, ipotizzando che gli acquisti siano omogeneamente distribuiti nell'arco dell'esercizio.

L'ammortamento è calcolato anche sui cespiti temporaneamente non utilizzati. Sono esclusi dall'ammortamento i terreni e le opere d'arte, la cui utilità non si esaurisce.

Nel caso in cui, indipendentemente dall'ammortamento già contabilizzato, risulti una perdita durevole di valore, l'immobilizzazione viene corrispondentemente svalutata; se in esercizi successivi vengono meno i motivi che avevano giustificato la svalutazione viene ripristinato il valore originario, nei limiti del valore che l'attività avrebbe avuto ove la rettifica di valore non avesse mai avuto luogo.

I costi di manutenzione e riparazione aventi natura ordinaria sono addebitati integralmente a conto economico. I costi di manutenzione aventi natura incrementativa sono attribuiti ai cespiti cui si riferiscono ed ammortizzati in relazione alle residue possibilità di utilizzo degli stessi.

I costi sostenuti per ampliare, ammodernare o migliorare gli elementi strutturali di un'immobilizzazione materiale sono capitalizzabili se producono un aumento significativo e misurabile della capacità produttiva, sicurezza o vita utile. Se tali costi non producono questi effetti, sono trattati come manutenzione ordinaria e addebitati al conto economico.

Le immobilizzazioni materiali nel momento in cui sono destinate all'alienazione sono riclassificate in un'apposita voce nell'attivo circolante e quindi valutate al minore tra il valore netto contabile e il valore di realizzazione desumibile dall'andamento del mercato. I beni destinati alla vendita non sono più oggetto di ammortamento.

I contributi in conto impianti sono rilevati nel momento in cui esiste una ragionevole certezza che le condizioni previste per il riconoscimento del contributo sono soddisfatte e che i contributi saranno erogati. Essi sono portati indirettamente a riduzione del costo in quanto imputati al conto economico nella voce A5 "altri ricavi e proventi", e quindi rinvii per competenza agli esercizi successivi attraverso l'iscrizione di "risconti passivi", oppure sono portati direttamente a riduzione del costo delle immobilizzazioni materiali a cui si riferiscono.

Perdite durevoli di valore (immobilizzazioni immateriali e materiali)

Le attività materiali ed immateriali sono svalutate quando eventi o modifiche delle circostanze facciano ritenere che il valore di iscrizione in bilancio non sia recuperabile.

Gli eventi che possono determinare una svalutazione di attività sono: variazione nei piani industriali,

variazioni nei prezzi di mercato che possono determinare minori performance operative, ridotto utilizzo degli impianti, modifiche e aggiornamenti del settore *Health Care* in ambito normativo e regolatorio.

La decisione se procedere ad una svalutazione e la quantificazione della medesima dipendono dalle valutazioni degli Amministratori su fattori complessi e altamente incerti, tra i quali l'andamento futuro dei prezzi, l'impatto dell'inflazione e dei miglioramenti tecnologici sui fattori di produzione, i profili produttivi e le condizioni della domanda e dell'offerta su scala globale, nazionale e regionale.

Qualora sussistano le condizioni di cui sopra, la svalutazione è determinata raffrontando il valore di iscrizione in bilancio con il relativo valore recuperabile, rappresentato dal maggiore tra il *fair value*, al netto degli oneri di dismissione, e il valore d'uso determinato attualizzando i flussi di cassa attesi derivanti dall'utilizzo dell'attività al netto degli oneri di dismissione, oppure avvalendosi dell'applicazione del metodo semplificato rappresentato dalla capacità di ammortamento. I flussi di cassa attesi sono determinati alla luce delle informazioni disponibili al momento della stima sulla base di giudizi soggettivi sull'andamento di variabili future – quali prezzi, costi, tassi di crescita della domanda, profili produttivi – e sono attualizzati utilizzando un tasso al netto delle imposte che tiene in considerazione il rischio inerente l'attività interessata.

La perdita di valore di un'attività viene ripristinata quando vi è un'indicazione che si sia ridotta o non esista più o quando vi è stato un cambiamento nelle valutazioni utilizzate per determinare il valore recuperabile.

Partecipazioni e Titoli (iscritti nelle immobilizzazioni)

Le partecipazioni ed i titoli di debito iscritti tra le immobilizzazioni sono destinati ad una permanenza durevole nel patrimonio della Società. Le partecipazioni sono valutate con il metodo del costo rettificato delle perdite durevoli di valore. I titoli di debito, rappresentati per lo più da investimenti mobiliari ricevuti in base a lasciti o donazioni con vincolo di detenzione degli stessi fino a scadenza o fino a quando riportato nella disposizione testamentaria, sono valutati con il metodo del costo ammortizzato. Il metodo del costo presuppone che il valore di iscrizione in bilancio sia determinato sulla base del prezzo di acquisto o di sottoscrizione, comprensivo dei costi accessori. Il valore di carico della partecipazione, quando viene rilevata l'esistenza di una perdita durevole di valore, viene ridotto al suo minor valore recuperabile, che è determinato in base ai benefici futuri che si prevede affluiranno all'economia della partecipante. Il valore originario della partecipazione viene ripristinato negli esercizi successivi qualora vengano meno i motivi della svalutazione effettuata.

Il costo ammortizzato di un titolo è il valore a cui il titolo è stato valutato al momento della rilevazione iniziale al netto dei rimborsi di capitale, aumentato o diminuito dall'ammortamento cumulato, utilizzando il criterio dell'interesse effettivo, su qualsiasi differenza tra il valore iniziale e quello a scadenza e dedotta qualsiasi riduzione (operata direttamente o attraverso l'uso di un accantonamento) a seguito di una perdita di valore. Il valore di iscrizione iniziale è rappresentato dal prezzo di acquisto o sottoscrizione al netto di eventuali commissioni.

Le immobilizzazioni finanziarie comprendono anche i depositi cauzionali iscritti al loro presumibile valore di smobilizzo.

Rimanenze

Le rimanenze sono iscritte al minore tra il costo di acquisto, determinato secondo il metodo del costo medio ponderato, ed il valore di presumibile realizzazione desumibile dall'andamento del mercato (art. 2426 numero 9 c.c.). Per costo di acquisto si intende il prezzo effettivo d'acquisto più gli oneri accessori, con esclusione degli oneri finanziari.

Nel caso delle merci, dei prodotti finiti, dei semilavorati e dei prodotti in corso di lavorazione si prende a riferimento per la determinazione del valore di realizzazione desumibile dall'andamento del mercato direttamente il valore netto di realizzazione di tali beni. Nel caso delle materie prime e sussidiarie che partecipano alla fabbricazione di prodotti finiti non sono oggetto di svalutazione se ci si attende che i prodotti finiti nei quali saranno incorporate sono oggetto di realizzazione per un valore pari o superiori al costo di produzione del prodotto finito.

Le rimanenze sono oggetto di svalutazione in bilancio quando il valore di realizzazione desumibile dall'andamento del mercato è minore del relativo valore contabile. Le scorte obsolete e di lento rigiro sono svalutate in relazione alla loro possibilità di utilizzo o di realizzo.

Crediti

I crediti sono rilevati in bilancio secondo il criterio del costo ammortizzato, tenendo conto del fattore temporale e del valore di presumibile realizzo. Il criterio del costo ammortizzato non è applicato quando gli effetti sono irrilevanti, ovvero quando i costi di transazione, le commissioni pagate tra le parti e ogni altra differenza tra valore iniziale e valore a scadenza sono di scarso rilievo oppure se i crediti sono a breve termine (ossia con scadenza inferiore ai 12 mesi).

I crediti commerciali con scadenza oltre i 12 mesi dal momento della rilevazione iniziale, senza corresponsione di interessi, o con interessi significativamente diversi dai tassi di interesse di mercato, ed i relativi ricavi, si rilevano inizialmente al valore determinato attualizzando i flussi finanziari futuri al tasso di interesse di mercato. La differenza tra il valore di rilevazione iniziale del credito così determinato e il valore a termine è rilevata a conto economico come provento finanziario lungo la durata del credito utilizzando il criterio del tasso di interesse effettivo.

Il valore dei crediti, come sopra determinato, è rettificato, ove necessario, da un apposito fondo svalutazione, esposto a diretta diminuzione del valore dei crediti stessi, al fine di adeguarli al loro presumibile valore di realizzo. L'importo della svalutazione è rilevato nel conto economico.

Ai sensi del punto 6) dell'Art. 2427 del Codice Civile si precisa che i crediti verso soggetti appartenenti ad aree geografiche diverse dall'Italia non sono significativi.

Attività finanziarie che non costituiscono immobilizzazioni

Tale voce accoglie i titoli di debito destinati, per decisione degli Amministratori, a non essere durevolmente investiti nella Società. Sono iscritti al minore tra il costo specifico calcolato secondo il metodo del costo medio ponderato ed il valore di mercato, determinato, per quelli quotati, sulla base del valore di quotazione alla data di chiusura dell'esercizio.

La svalutazione dei titoli al minor valore di realizzazione è effettuata singolarmente, per ogni specie di titolo. Qualora vengano meno, in tutto o in parte, i presupposti della rettifica, la rettifica stessa è annullata, sino a concorrenza del ripristino del costo.

Disponibilità liquide

Le disponibilità liquide alla chiusura dell'esercizio sono valutate al valore nominale. Le eventuali disponibilità denominate in valuta estera sono valutate al cambio di fine esercizio.

Ratei e Risconti

Nella voce ratei e risconti sono state iscritte quote di costi e di ricavi di competenza dell'esercizio, ma esigibili in esercizi successivi e quote di costi e di ricavi sostenuti entro la chiusura dell'esercizio, ma di competenza di esercizi successivi, secondo il principio della competenza temporale.

Fondi per rischi ed oneri

I fondi per rischi ed oneri sono stanziati per coprire perdite o debiti di natura determinata, di esistenza certa o probabile, dei quali tuttavia alla chiusura dell'esercizio non sono determinabili l'ammontare o la data di sopravvenienza. Gli stanziamenti riflettono la migliore stima possibile sulla base degli elementi a disposizione. I rischi per i quali il manifestarsi di una passività è soltanto possibile sono indicati nella nota di commento dei fondi, senza procedere allo stanziamento di un fondo rischi ed oneri. Gli accantonamenti ai fondi rischi e oneri sono iscritti prioritariamente nelle voci di costo di conto economico delle pertinenti classi (B, C o D). Tutte le volte in cui non è attuabile questa correlazione tra la natura dell'accantonamento ed una delle voci alle suddette classi, gli accantonamenti per rischi e oneri sono iscritti alle voci B12 e B13 del conto economico.

Fondo trattamento di fine rapporto lavoro subordinato

Nella voce trattamento di fine rapporto è stato iscritto quanto i dipendenti avrebbero diritto a percepire in caso di cessazione del rapporto di lavoro alla data di chiusura del bilancio. Le indennità di anzianità costituenti la suddetta voce, ossia la quota di accantonamento di competenza dell'anno e la rivalutazione annuale del fondo preesistente, sono determinate in conformità alle norme vigenti. Il trattamento di fine rapporto è iscritto nella voce C del passivo ed il relativo accantonamento alla voce B9 del conto economico.

Le modifiche apportate alla normativa TFR dalla Legge 27 dicembre 2006 n. 296 ("Legge Finanziaria 2007") e dai successivi Decreti e Regolamenti attuativi, hanno modificato i criteri di contabilizzazione applicati alle quote di TFR maturate al 31 dicembre 2006 e a quelle maturande dal 1° gennaio 2007, in quanto con l'istituzione del "Fondo per l'erogazione ai lavoratori dipendenti del settore privato dei trattamenti di fine rapporto di cui all'articolo 2120 del Codice Civile" (Fondo di Tesoreria gestito dall'INPS per conto dello Stato) i datori di lavoro che hanno alle proprie dipendenze almeno 50 addetti sono obbligati a versare a tale Fondo di Tesoreria le quote di TFR maturate in relazione ai quei lavoratori che non abbiano scelto di conferire la propria quota di liquidazione ad un fondo di previdenza

complementare. L'importo del Trattamento di fine Rapporto esposto in bilancio è quindi indicato al netto delle quote versate al suddetto Fondo di Tesoreria INPS.

Debiti

I debiti sono iscritti secondo il criterio del costo ammortizzato, tenendo conto del fattore temporale. Il criterio del costo ammortizzato non è applicato ai debiti qualora i suoi effetti risultino irrilevanti. Gli effetti sono considerati irrilevanti per i debiti a breve termine (ossia con scadenza inferiore ai 12 mesi). Per il criterio del costo ammortizzato vedasi quanto detto con riferimento ai crediti.

I debiti per ferie maturate dai dipendenti e per retribuzioni differite, comprensivi di quanto dovuto agli enti previdenziali, sono stanziati sulla base dell'ammontare che si dovrebbe corrispondere nell'ipotesi di cessazione del rapporto di lavoro alla data del bilancio.

Ai sensi del punto 6) dell'Art. 2427 del Codice Civile si precisa che i debiti verso soggetti appartenenti ad aree geografiche diverse dall'Italia non sono significativi.

Attività e passività denominate in valuta

I crediti e i debiti espressi originariamente in valuta estera al di fuori dell'Euro sono iscritti in base ai cambi in vigore alla data in cui sono sorti e sono convertiti ai cambi a pronti in vigore alla data di chiusura del bilancio.

Le differenze di cambio realizzate sono accreditate/addebitate al conto economico alla voce 17 bis "Utili e perdite su cambi".

L'eventuale utile netto derivante dall'adeguamento ai cambi di fine esercizio delle poste in valuta concorre alla formazione del risultato d'esercizio e in sede di approvazione del bilancio e conseguente destinazione del risultato a riserva legale, è iscritto, per la parte non assorbita dall'eventuale perdita d'esercizio, in una riserva non distribuibile sino al momento del successivo realizzo.

La fonte di rilevazione dei cambi è la Banca d'Italia.

Operazioni di *Leasing* Finanziario

Le operazioni di locazione finanziaria sono rappresentate in bilancio secondo il metodo patrimoniale, contabilizzando a conto economico i canoni corrisposti, secondo il principio di competenza.

In apposita sezione della Nota Integrativa sono fornite le informazioni complementari previste dalla legge e relative alla rappresentazione dei contratti di locazione finanziaria, secondo il metodo finanziario.

Ricavi

I ricavi per i servizi forniti nell'ambito delle attività istituzionali sono riconosciuti in base alle prestazioni effettuate nel periodo di competenza, mentre i ricavi derivanti da prestazioni rese a pazienti degenti in regime di convenzionamento con il Servizio Sanitario Nazionale sono imputati a Conto Economico al momento della dimissione, che determina la possibilità di valorizzazione della prestazione e la conseguente maturazione del ricavo.

Sulla base della normativa vigente in materia di rimborso delle prestazioni ambulatoriali, somministrazione di farmaci e di ricovero erogate ai pazienti in regime di convenzione con il Servizio Sanitario Nazionale, i ricavi sono valorizzati, previa validazione dell'ente di riferimento, qualora disponibile, applicando le tariffe riconosciute nel limite contrattuale sottoscritto. Conseguentemente i maggiori volumi di prestazioni erogate rispetto al *budget* assegnato, per la quota non riconosciuta contrattualmente, o dall'impianto normativo successivamente introdotto, vengono rettificati tramite stanziamento di nota credito da emettere mentre, per la quota soggetta a regressione tariffaria o a tetto di sistema, vengono in parte svalutati attraverso l'accantonamento ad un apposito fondo rischi.

Le transazioni con entità correlate sono avvenute a normali condizioni di mercato e sono espone dettagliatamente nella Relazione sulla Gestione.

Contributi per funzioni ospedaliere non tariffabili

I predetti contributi sono prudenzialmente riconosciuti al conto economico contestualmente all'incasso, in ragione dell'indeterminatezza dell'ammontare stabilito in sede di delibera regionale; pertanto gli acconti ricevuti in corso di esercizio vengono contabilizzati nei ricavi delle vendite e delle prestazioni; il saldo, qualora incassato in un esercizio successivo a quello di competenza, viene contabilizzato nelle sopravvenienze attive/passive gestionali.

Qualora invece la delibera regionale che definisce l'importo di tali contributi fosse disponibile in tempo utile alla stesura del bilancio civilistico si provvede alla contabilizzazione degli stessi per quanto complessivamente riconosciuto.

Ricavi per maggiorazioni tariffarie LR 7/2010 – DGR 350

La contabilizzazione dei predetti ricavi, in mancanza della delibera di assegnazione dell'ente di riferimento, è effettuata a conto economico stimando gli impatti della normativa vigente alla stesura del bilancio. La contabilizzazione dell'importo riconosciuto in un esercizio successivo a quello di competenza potrebbe pertanto comportare l'iscrizione di una sopravvenienza attiva o passiva gestionale.

Contributi per programmi di ricerca

I contributi in conto impianti sono rilevati come descritto sopra per le immobilizzazioni materiali.

I contributi in conto esercizio erogati dal Ministero della Salute, da Enti e da società esterne, finalizzati al finanziamento di programmi di ricerca, sono accreditati a conto economico per competenza in relazione ai costi sostenuti. I contributi relativi ai progetti di ricerca per i quali l'Istituto risulta capofila, sono esposti al netto degli importi da riconoscere alle unità operative (*subcontractor*).

Contributi e liberalità da terzi

I contributi ricevuti da terzi a titolo di liberalità a sostegno delle attività istituzionali sono iscritti in bilancio e accreditati al conto economico nell'esercizio in cui sono incassati o ritenuti certi; se destinati ad attività di ricerca, sono accreditati al conto economico per competenza in relazione ai rispettivi costi sostenuti.

Contributo 5 per mille

La Legge n. 266 del 23 dicembre 2005, Art. 1 comma 337 contenuta nella Legge Finanziaria 2006, ha introdotto la possibilità per il contribuente di destinare la quota del 5 per mille dell'imposta sul reddito delle persone fisiche a suo carico alternativamente per il sostegno del volontariato, il finanziamento della ricerca scientifica e dell'Università, il finanziamento della ricerca sanitaria o il finanziamento di attività sociali svolte dai comuni. All'Ente destinatario spetta sia la quota del 5 per mille specificatamente attribuita dal contribuente, sia la quota proporzionale attribuita in base alle scelte generiche dei contribuenti in favore dell'area di appartenenza dell'Ente percipiente.

Il provvedimento di cui alla Legge Finanziaria 2006 è stato successivamente reiterato in analoghi provvedimenti legislativi contenuti nelle Leggi Finanziarie (di stabilità) per gli esercizi successivi.

La Legge Finanziaria per l'anno 2009 ha anche provveduto a chiarirne la qualificazione giuridica,

definendo il 5 per mille un contributo a titolo di finanziamento della ricerca sanitaria oggetto di specifica pianificazione (preventiva) e rendicontazione (consuntiva) al Ministero della Salute entro la data del 31 gennaio, rispettivamente successivo alla data di incasso dei contributi e alla data di chiusura dei progetti. In considerazione di quest'ultimo chiarimento, l'Istituto destina tali contributi a specifici progetti di ricerca che sono individuati dalla Direzione dello stesso per ogni esercizio. Conseguentemente i contributi vengono iscritti in bilancio quando certi e determinabili e sono accreditati al conto economico per competenza nell'esercizio di individuazione dei costi relativi ai progetti di ricerca cui sono stati destinati.

Costi

I costi sono contabilizzati in base al principio di competenza, indipendentemente dalla data di incasso e pagamento, al netto dei resi, degli sconti, degli abbuoni e dei premi.

Costi di ricerca

I costi di ricerca e sviluppo sono addebitati al conto economico dell'esercizio in cui sono sostenuti.

Dividendi

I dividendi derivanti dalle partecipazioni possedute sono contabilizzati nell'esercizio in cui vengono deliberati dall'Assemblea dei Soci. I dividendi sono rilevati come proventi finanziari indipendentemente dalla natura delle riserve oggetto di distribuzione.

Proventi ed oneri finanziari

I proventi ed oneri finanziari sono iscritti per competenza. I costi relativi alle operazioni di smobilizzo crediti a qualsiasi titolo e di qualsiasi natura (commerciali, finanziarie, altro) sono imputati nell'esercizio di competenza.

Imposte sul reddito dell'esercizio

Sono iscritte in base alla stima del reddito imponibile in conformità alle disposizioni in vigore, tenendo conto delle esenzioni applicabili e dei crediti d'imposta spettanti.

Le imposte differite passive e attive sono calcolate sulle differenze temporanee tra i valori delle attività e delle passività determinati secondo i criteri civilistici ed i corrispondenti valori riconosciuti a fini fiscali.

La loro valutazione è effettuata tenendo conto della presumibile aliquota fiscale che la Società si prevede sosterrà nell'anno in cui tali differenze concorreranno alla formazione del risultato fiscale, considerando le aliquote in vigore o già emanate alla data di bilancio e vengono appostate rispettivamente nel "fondo imposte differite" iscritto nel passivo tra i fondi rischi e oneri e nella voce "crediti per imposte anticipate" dell'attivo circolante.

Le attività per imposte anticipate sono rilevate per tutte le differenze temporanee deducibili, in rispetto al principio della prudenza, se vi è la ragionevole certezza dell'esistenza negli esercizi in cui le stesse si riverteranno di un reddito imponibile non inferiore all'ammontare delle differenze che si andranno ad annullare.

Per contro, le imposte differite passive sono rilevate su tutte le differenze temporanee imponibili.

Le imposte differite relative alle riserve in sospensione di imposta non sono rilevate se vi sono scarse probabilità di distribuire tali riserve ai Soci.

Uso di stime

E' da rilevare che la redazione del Bilancio di Esercizio richiede da parte degli Amministratori l'effettuazione di stime e di assunzioni che hanno effetto sui valori dei ricavi, dei costi, delle attività e delle passività di bilancio e sull'informativa relativa ad attività e passività potenziali alla data del Bilancio di esercizio.

Tali stime e assunzioni utilizzate sono basate sull'esperienza e su altri fattori considerati rilevanti. Nonostante il continuo processo di analisi delle stime incrementi l'attendibilità delle stesse, i risultati che si consuntiveranno potrebbero pertanto differire da tali stime, e in tal caso gli effetti di ogni variazione saranno riflessi a conto economico nel periodo in cui avviene la revisione di stima se la revisione stessa dovesse avere effetti solo su tale periodo, o anche nei periodi successivi se la revisione avesse effetti sia sull'esercizio corrente, sia su quelli futuri.

Di seguito sono riepilogati i processi critici di valutazione e le assunzioni chiave utilizzate dal Management nel processo di applicazione dei principi contabili riguardo al futuro e che possono avere effetti significativi sui valori rilevati nel bilancio o per le quali esiste il rischio che possano emergere rettifiche di valore significative al valore contabile delle attività e passività nell'esercizio successivo a quello di riferimento del bilancio.

Fondo svalutazione crediti e abbattimento crediti SSN

I fondi svalutazione crediti e abbattimenti SSN riflettono le stime delle perdite connesse al portafoglio crediti della Società e la miglior applicazione della normativa di riferimento disponibile alla data di stesura del bilancio. Gli accantonamenti sono effettuati a fronte di perdite attese su crediti, stimate in base all'esperienza passata con riferimento a crediti con analoga rischiosità creditizia, nonché all'attento monitoraggio della qualità del portafoglio crediti.

Pur ritenendo congrui i fondi stanziati, l'uso di ipotesi diverse o il cambiamento delle normative e delle condizioni economiche potrebbero riflettersi in variazioni di tali fondi e quindi avere un impatto sul risultato della Società. Le stime e le assunzioni sono riviste periodicamente e gli effetti di ogni variazione sono riflesse a conto economico nell'esercizio di competenza.

Rimanenze e fondo svalutazione

La valutazione delle rimanenze e del relativo fondo svalutazione riflette la migliore stima circa le previsioni per il loro utilizzo nel tempo sulla base dei dati consuntivi a disposizione. L'Istituto ritiene che le stime effettuate e i dati di input presi in considerazione consentano una corretta rilevazione delle rimanenze ed una ragionevole stima del fondo obsolescenza; tuttavia, data la natura complessa delle stime riguardanti i fattori in precedenza richiamati e le relative aree di incertezza sottostanti, non è dato di escludere che dalla revisione delle stime nei prossimi esercizi possano emergere ulteriori esigenze di accantonamenti o svalutazioni.

Recuperabilità delle imposte anticipate

Il bilancio d'esercizio espone attività per imposte anticipate che risultano connesse alla rilevazione di differenze temporanee tra i valori civilistici e i relativi valori riconosciuti ai fini fiscali, utilizzabili in esercizi successivi nei limiti della capacità della Società di generare utili imponibili. La valutazione della predetta recuperabilità tiene conto della stima dei redditi imponibili futuri e si basa sul piano approvato dagli Amministratori, frutto di assunzioni; tuttavia nel momento in cui si dovesse constatare che la Società non fosse in grado di recuperare negli esercizi futuri la totalità o parte delle predette imposte anticipate rilevate, la conseguente rettifica sarebbe imputata al Conto Economico dell'esercizio in cui si verifica tale circostanza.

Contenziosi legali e fiscali

L'Istituto effettua accantonamenti connessi prevalentemente ai contenziosi legali e fiscali in essere.

Data la natura di tali contenziosi, non è sempre oggettivamente possibile prevedere l'esito finale di tali vertenze, alcune delle quali potrebbero concludersi con esito sfavorevole.

La stima degli accantonamenti in queste materie è frutto di un processo complesso che comporta giudizi per loro natura soggettivi da parte della Direzione Aziendale e pertanto soggetti a possibili processi di revisione nel tempo.

Recuperabilità delle immobilizzazioni materiali e immateriali

Si veda quanto riportato sopra nell'ambito del paragrafo "Perdite durevoli di valore" circa l'uso di stime per la recuperabilità del valore delle immobilizzazioni materiali ed immateriali.

Proposta di destinazione dell'utile

Signori Soci, ai sensi dell'art. 2427 comma 1 n. 22-septies del Codice Civile, nel raccomandarVi l'approvazione del seguente bilancio, che presenta un utile di esercizio pari ad € 2.202.502, Vi proponiamo di destinare l'utile, come previsto dall'art. 26 dello statuto, alla riserva legale per € 220.250 ed al Fondo ricerca e sviluppo per € 1.982.252.

ALTRE INFORMAZIONI

Deroghe ai sensi del IV comma art. 2423 C.C.

Si precisa, altresì, che non si sono verificati casi eccezionali che abbiano richiesto deroghe alle norme di legge relative al bilancio ai sensi del IV comma dell'art. 2423 C.C.

Informativa sull'attività di direzione e coordinamento

Con riferimento agli adempimenti di cui all'art. 2497 bis C.C., si precisa che l'Istituto non è soggetto a direzione e coordinamento da parte di nessun soggetto in quanto tale attività è esercitata in modo autonomo dalla Direzione dell'Istituto stesso.

Informativa ai sensi dell'Art. 2427-Bis C.C. Strumenti finanziari

La Società non ha emesso o detenuto nel corso dell'esercizio strumenti finanziari derivati, mentre il valore netto contabile delle immobilizzazioni finanziarie risulta in linea con il loro *fair value* al 31 dicembre 2021.

Dati sull'occupazione

Il numero dei dipendenti al 31 dicembre 2021 confrontati con l'esercizio precedente è riepilogato nell'informativa fornita nella relazione sulla gestione.

COMMENTO ALLE VOCI DELL'ATTIVO**IMMOBILIZZAZIONI**

Per le immobilizzazioni immateriali e materiali sono stati predisposti appositi prospetti, riportati nelle pagine seguenti, che indicano, per ciascuna voce, il costo storico, l'ammortamento già contabilizzato, i movimenti intercorsi nell'esercizio ed il saldo finale.

Immobilizzazioni Immateriali € **3.782.589** (2020: € **3.727.994**)

Descrizione	31.12.2021	31.12.2020
Brevetti e utilizzo opere d'ingegno		
- Software	-	-
Concessioni, licenze, marchi e diritti simili		
- Licenze d'uso pacchetti applicativi	2.512	2.269
Immobilizzazioni in corso e acconti		
- Immobilizzazioni in corso	659	633
Altre		
- Migliorie su beni di terzi	612	826
Totale Altre	612	826
TOTALI	3.783	3.728

Nel corso dell'esercizio le immobilizzazioni immateriali sono incrementate rispetto allo scorso esercizio per € 55 mila; l'ammortamento si attesta ad € 1.507 mila, gli acquisti dell'esercizio sono pari ad € 1.636 mila e i decrementi pari ad € 79 mila.

Nel corso dell'esercizio sono stati altresì capitalizzati costi relativi a concessioni, licenze, marchi e diritti simili (€ 858 mila) legati al miglioramento della infrastruttura informatica a supporto della gestione del paziente, dell'attività clinica, di ricerca e amministrativa.

Non risultano presenti al 31 dicembre 2021 impegni relativi alle immobilizzazioni immateriali detenute.

In sede di predisposizione del bilancio, non avendo riscontrato indicatori di perdita durevole di valore, l'Istituto ha mantenuto il valore di iscrizione in bilancio delle immobilizzazioni immateriali possedute, senza procedere alla valutazione della loro recuperabilità.

PROSPETTO DELLE VARIAZIONI NEI CONTI DELLE IMMOBILIZZAZIONI IMMATERIALI

(ESERCIZIO 2021)

	Situazione 31.12.2020			Movimenti dell'esercizio 2021				Situazione 31.12.2021		
	Costo Originario	Fondo Amm.to	Saldo 31.12.20	Incrementi	Decrementi	Riclassifiche	Amm.ti	Costo Originario	Fondo Amm.to	Saldo 31.12.21
Brevetti e utilizzo opere dell'ingegno	2.237	(2.237)	-	-	-	-	-	2.237	(2.237)	-
Concessioni, licenze, marchi e diritti simili	9.965	(7.696)	2.269	858	-	511	(1.126)	11.334	(8.822)	2.512
Immobilizzazioni in corso e acconti	633	-	633	676	(79)	(571)	-	659	-	659
Migliorie su beni di terzi	2.734	(1.908)	826	102	-	65	(381)	2.901	(2.289)	612
	15.569	(11.841)	3.728	1.636	(79)	5	(1.507)	17.131	(13.348)	3.783

Immobilizzazioni Materiali € 82.674.350 (2020: € 80.034.414)

Rientrano in tale voce dell'attivo i beni di uso durevole costituenti parte dell'organizzazione permanente dell'Istituto. Il riferirsi a fattori e condizioni durature non è caratteristica intrinseca ai beni come tali, bensì alla loro destinazione. Essi sono normalmente impiegati come strumenti di produzione del reddito della gestione caratteristica e non sono destinati né alla vendita, né alla trasformazione per l'ottenimento dei prodotti/servizi dell'Istituto.

Gli ammortamenti ordinari, evidenziati nell'apposito prospetto, sono stati calcolati sulla base di aliquote ritenute rappresentative della residua possibilità di utilizzo delle relative immobilizzazioni materiali.

Le aliquote applicate sono le seguenti:

Fabbricati:	3%
Efficientamento energetico del tetto:	6,7%
Parcheggio:	10%
Impianti specifici:	12%
Impianti generici:	8%
Attrezzatura specifica:	12,5%
Attrezzatura generica:	12,5%
Biancheria:	40%
Mobili e arredi:	10%
Macchine d'ufficio:	20%
Impianti elettronici:	20%

Riepilogo valori di bilancio:

	31.12.2021	Valore netto	31.12.2020	Valore netto
Terreni	9.247		9.247	
Fondo Ammortamento	-		-	
Totale Terreni		9.247		9.247
Fabbricati	41.596		42.008	
Fondo Ammortamento	(26.583)		(25.655)	
Totale Fabbricati		15.013		16.353
Totale Terreni e Fabbricati		24.260		25.600
Impianti e macchinari	28.982		26.763	
Fondo Ammortamento	(19.669)		(18.722)	
Totale Impianti e macchinari		9.313		8.041
Attrezzature industriali e commerciali	112.870		107.788	
Fondo Ammortamento	(88.357)		(83.635)	
Totale Attrezzature industriali e commerciali		24.513		24.153
Altri beni				
. Mobili e arredi	12.129		11.527	
Fondo Ammortamento	(10.454)		(10.198)	
		1.675		1.329
. Macchine d'ufficio	9.357		8.684	
Fondo Ammortamento	(7.856)		(7.337)	
		1.501		1.347
. Impianti elettronici	11.927		11.668	
Fondo Ammortamento	(11.247)		(10.719)	
		680		949
Totale altri beni		3.856		3.625
Immobilizzazioni in corso e acconti	20.732		18.615	
Totale Immobilizzazioni in corso e acconti		20.732		18.615
TOTALI		82.674		80.034

Nel corso dell'esercizio le immobilizzazioni materiali hanno subito complessivamente un incremento netto pari ad € 2.640 mila, principalmente ascrivibile agli acquisti dell'esercizio pari ad € 14.086 mila e all'ammortamento per € 9.786 mila.

Gli incrementi sono prevalentemente afferenti per € 3.867 mila alle immobilizzazioni in corso, per € 5.836 mila all'aggiornamento del parco tecnologico, per € 1.900 mila ad impianti e macchinari,

per € 1.027 mila per Fabbricati, per € 670 mila a macchine d'ufficio, per € 602 mila a mobili e arredi e per € 184 mila ad impianti elettronici.

A fine esercizio, le immobilizzazioni in corso si riferiscono a cespiti in fase di collaudo ed acconti legati principalmente alla realizzazione del progetto "Proton Terapia" (€ 18.094 mila), di IEO₃ (€ 1.204 mila), di IEO₄ (€ 606 mila), all'area information Technology (€ 388mila), al piano spazi (€ 225 mila).

Si rinvia all'apposito prospetto allegato per il dettaglio analitico dei saldi e delle movimentazioni avvenute durante il periodo per ogni categoria di beni e per le aliquote di ammortamento applicate per la categoria di cespiti a cui si riferiscono.

In sede di chiusura di bilancio, non avendo riscontrato indicatori di perdita durevole di valore, l'Istituto ha mantenuto il valore di iscrizione in bilancio delle immobilizzazioni materiali detenute, senza procedere alla valutazione della loro recuperabilità.

PROSPETTO DELLE VARIAZIONI NEI CONTI DELLE IMMOBILIZZAZIONI MATERIALI
(ESERCIZIO 2021)

	Situazione al 31.12.2020			Movimenti dell'esercizio 2021					Situazione al 31.12.2021		
	Costo originario	Fondo Amm.to	Saldo 31.12.20	Incrementi	Decrementi	Riclassifiche	Realizzi f.do amm.	Amm.ti	Costo originario	Fondo Amm.to	Saldo 31.12.21
Terreni e fabbricati											
• Terreni	9.247	-	9.247	-	-	-	-	-	9.247	-	9.247
• Fabbricati	42.008	(25.655)	16.353	1.027	(1.604)	165	409	(1.337)	41.596	(26.583)	15.013
	51.255	(25.655)	25.600	1.027	(1.604)	165	409	(1.337)	50.843	(26.583)	24.260
Impianti e macchinari											
• Specifici	11.823	(8.115)	3.708	412	(203)	56	203	(675)	12.088	(8.587)	3.501
• Generici	14.940	(10.607)	4.333	1.488	(352)	818	267	(742)	16.894	(11.082)	5.812
	26.763	(18.722)	8.041	1.900	(555)	874	470	(1.417)	28.982	(19.669)	9.313
Attrezzature ind.li e comm.li											
• Specifiche	105.507	(82.296)	23.211	5.828	(1.007)	253	1.007	(5.563)	110.581	(86.852)	23.729
• Generiche	2.281	(1.339)	942	8				(166)	2.289	(1.505)	784
	107.788	(83.635)	24.153	5.836	(1.007)	253	1.007	(5.729)	112.870	(88.357)	24.513
Altri beni											
• Mobili e arredi	11.527	(10.198)	1.329	602				(256)	12.129	(10.454)	1.675
• Macchine d'ufficio	8.684	(7.337)	1.347	670		3		(519)	9.357	(7.856)	1.501
• Impianti elettronici	11.668	(10.719)	949	184		75		(528)	11.927	(11.247)	680
	31.879	(28.254)	3.625	1.456		78		(1.303)	33.413	(29.557)	3.856
Immobilizzazioni in corso e acconti	18.615	-	18.615	3.867	(375)	(1.375)	-	-	20.732	-	20.732
TOTALE	236.300	(156.266)	80.034	14.086	(3.541)	(5)	1.886	(9.786)	246.840	(164.166)	82.674

Il valore dei noleggi è pari ad € 720 mila ed è riconducibile alle seguenti attrezzature:

- attrezzature elettromedicali € 236 mila;
- autovetture € 229 mila;
- fotocopiatrici € 56 mila;
- attrezzature scientifiche € 61 mila;
- altro € 138 mila.

Immobilizzazioni finanziarie

Partecipazioni in controllate	€ 58.068.067	(2020: € 57.803.558)
--------------------------------------	---------------------	-----------------------------

Le partecipazioni in imprese controllate sono iscritte al costo di acquisto o costituzione, comprensivo dei costi accessori costituiti da costi direttamente imputabili all'operazione di acquisto o di costituzione quali ad esempio i costi di intermediazione bancaria e finanziaria, le commissioni, le spese e le imposte.

Le società controllate sono valutate con il metodo del costo rettificato per perdite durevoli di valore.

La voce è relativa, per € 57.804 mila alla partecipazione totalitaria nel Centro Cardiologico Monzino S.p.A..

Il Centro Cardiologico Monzino S.p.A., con sede legale in Via Filodrammatici n. 10, Milano e capitale sociale pari ad € 17.800.000, acquistato nel corso dell'anno 2000 e riconosciuto Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico dal 1982, è *leader* nel settore della cardiologia e cardiocirurgia; è una struttura monospecialistica di n. 215 letti autorizzati dalla Regione Lombardia, impiega n. 639 dipendenti (in forza al 31.12.2021) ed è sede di cattedre dell'Università degli Studi di Milano.

Il Centro Cardiologico Monzino S.p.A. ha chiuso l'esercizio 2021 registrando un risultato positivo per € 0,3 milioni (rispetto all'utile del 2020 per € 2,3 milioni) ed un patrimonio netto pari ad € 55,9 milioni.

Si ricorda che al 31 dicembre 2020 il valore netto contabile della partecipazione risultava essere pari ad € 57,8 milioni, al netto di svalutazioni ripristinabili effettuate in esercizi precedenti per € 11,4 milioni.

Gli Amministratori, consistentemente con quanto fatto negli esercizi precedenti, hanno ritenuto

opportuno ripristinare il valore della partecipazione solamente per la quota attribuibile al risultato di esercizio, pari ad € 0,3 milioni, residuando pertanto svalutazioni ripristinabili alla data del 31 dicembre 2021 pari ad ulteriori € 11,1 milioni.

Partecipazioni in altre imprese	€ 684.728	(2020: € 298.291)
----------------------------------------	------------------	--------------------------

La voce include la quota sottoscritta in Genextra S.p.A. pari ad € 646 mila, relativa a n. 642.334 azioni ordinarie corrispondenti allo 0,6% del capitale sociale, la quota sottoscritta nel Consorzio Alleanza contro il Cancro (15% del capitale sociale) per un valore di € 25 mila, quella in Progen (€ 5 mila) e nel Centro Europeo di Nanomedicina (€ 8 mila), Associazione "Cluster Lombardo Scienza della Vita" (€ 1 mila).

Crediti

Crediti verso altri € 1.016.913 (2020: € 1.027.284)

La voce include principalmente, oltre al deposito cauzionale relativo al contratto di affitto per lo IEO Day Centre (€ 924 mila) e al contratto di affitto Via Lampedusa (€ 30 mila), i depositi cauzionali versati alle società concessionarie in relazione ai contratti per i servizi di telefono, elettricità e gas.

ATTIVO CIRCOLANTERimanenze

Materie prime, sussidiarie e di consumo € 8.410.815 (2020 € 8.980.306)

Tale posta rappresenta il valore delle merci in giacenza a fine esercizio, così suddiviso per categoria merceologica:

	31.12.2021	31.12.2020
Medicinali	4.980	4.803
Presidi sanitari	4.038	4.510
Materiali di consumo	57	85
	9.075	9.398
Fondo obsolescenza	(664)	(418)
TOTALE	8.411	8.980

Il valore delle rimanenze è stato calcolato con il metodo del costo medio ponderato ed include il fondo obsolescenza per un importo totale di € 664 mila, in considerazione della lenta movimentazione di taluni *items*.

Immobilizzazioni destinati alla vendita € 60.000 (2020: € -)

La posta si riferisce ad un immobile, ricevuto in eredità negli scorsi esercizi, la cui vendita si è perfezionata a fine gennaio 2022.

Crediti € 54.048.594 (2020: € 39.161.181)

Tutti i crediti di cui alle poste che seguono hanno scadenza entro i 12 mesi.

Crediti verso clienti € 48.051.989 (2020: € 32.863.041)

La voce, relativa alle prestazioni caratteristiche dell'Istituto, risulta così composta:

	31.12.2021	31.12.2020
Crediti esigibili entro l'esercizio successivo		
- fatturati	33.679	17.694
- da fatturare	17.357	18.009
	51.036	35.703
Crediti esigibili oltre l'esercizio successivo	-	-
Fondo Svalutazione Crediti	(2.984)	(2.840)
TOTALE	48.052	32.863

I crediti registrano un incremento complessivo di € 15,2 milioni rispetto allo scorso esercizio.

Tale variazione si riferisce principalmente ai crediti verso l'ATS Città di Metropolitana di Milano per € 11,7 milioni, all'incremento dei crediti solventi per € 2,4 milioni.

I crediti per prestazioni fatturate, esigibili entro l'esercizio successivo, comprendono i crediti verso clienti solventi, nonché crediti verso Enti Pubblici (ATS, Regione Lombardia e Ministero della Salute) per i quali l'importo del credito risulta riconosciuto da delibera dell'ente debitore.

I crediti per prestazioni da fatturare (€ 17.357 mila), si riferiscono principalmente a:

- fatture da emettere relative a trials clinici (€ 8.278 mila);
- fatture da emettere relative alle maggiorazioni tariffarie 2020 (€ 998 mila) e 2021 (€ 666 mila);
- fatture da emettere relative alle prestazioni ambulatoriali 2021 (€ 3.873 mila);
- fatture da emettere solventi (€ 2.718 mila);
- fatture da emettere al Ministero della Salute per progetti di Ricerca Finalizzata ed altri (€ 604 mila).

Infine, di seguito si fornisce il dettaglio per natura dei crediti sopra indicati:

	2021	2020
Crediti non afferenti all'ATS:		
Crediti verso clienti solventi	19.061	16.611
Crediti diversi	14.993	13.257
Crediti verso Ministero	604	1.129
Crediti per rimborsi regionali	169	154
TOTALE	34.827	31.151
Crediti verso ATS:		
Crediti verso ATS per DRG e maggiorazioni e funzioni	6.773	5.471
Crediti verso ATS per attività ambulatoriale e screening	9.161	2.967
Crediti/(Note credito da emettere) per farmaci	275	(3.886)
TOTALE	16.209	4.552
TOTALI	51.036	35.703

Il fondo svalutazione crediti, pari ad € 2.984 mila, relativo ai rischi di inesigibilità nei confronti dei pazienti solventi e di altri crediti di natura commerciale, si è complessivamente incrementato nell'anno per € 144 mila a fronte di accantonamenti per € 1.373 mila ed utilizzi per € 1.229 mila.

In base alla documentazione ed alle informazioni disponibili e tenuto conto della consistenza del fondo stanziato, si ritiene recuperabile l'importo netto dei crediti indicato, ancorché siano possibili, da parte degli enti pubblici debitori, conguagli che potrebbero modificare la stima dell'accantonamento effettuato a fondo rischi (fondo abbattimento crediti SSN).

I crediti per le prestazioni rese nel 2021 a pazienti del SSN sono iscritti in bilancio secondo il valore di presumibile realizzo.

Nel mese di giugno 2021 l'Istituto ha sottoscritto il contratto integrativo con la ATS (in base a quanto previsto dalla D.G.R. n. XI/4733 del 26 maggio 2021) nel quale è stato assegnato all'Istituto Europeo di Oncologia un *budget* per l'anno 2021 pari ad € 52.437.649 per le attività di ricovero, di cui € 21.410.629 a favore dei cittadini residenti in Regione Lombardia, e ad € 37.307.108 per le attività di specialistica ambulatoriale e diagnostica strumentale, di cui € 18.689.975 a favore dei cittadini residenti in Regione Lombardia. I rimborsi sono assoggettati a regressioni tariffarie crescenti a valere fino a quota 106%, oltre tale limite non viene garantita la remunerazione delle prestazioni. Nel mese di ottobre 2021, inoltre,

l'Istituto ha firmato un addendum contrattuale con la ATS (in ottemperanza alla D.G.R. n. XI/5173 del 02 agosto 2021), nel quale è stata assegnata una quota complessiva di risorse fino a un massimo di € 1.570.101 per l'erogazione delle prestazioni aggiuntive di ricovero programmato ordinario per acuti e di € 422.623 per l'erogazione delle prestazioni aggiuntive di specialistica ambulatoriale.

In considerazione dei maggiori volumi di prestazioni ambulatoriali e di ricovero erogate nel 2020 rispetto al *budget* assegnato, sono state conseguentemente appostate note credito da emettere rispettivamente per € 5.527 mila ed € 2.399 mila.

Ai sensi del punto 6 art. 2427 Codice Civile si precisa che, alla data del presente bilancio, non sono significativi i crediti verso soggetti esteri.

Crediti verso imprese controllate	€	167.250	(2020: €	237.045)
------------------------------------------	---	---------	----------	----------

L'importo è relativo a crediti commerciali per servizi resi dall'Istituto a favore della controllata Centro Cardiologico Monzino S.p.A. per prestazioni di servizi centralizzati e servizi clinici.

Crediti tributari	€	1.492.737	(2020: €	908.347)
--------------------------	---	-----------	----------	----------

La posta include per € 1.397 mila il credito d'imposta per gli investimenti sui nuovi beni (agevolazioni relative ai cd. "*superammortamento*" e "*iperammortamento*"), per € 96 mila il credito relativo a ritenute subite.

Crediti per imposte anticipate	€	2.794.441	(2020: €	3.114.212)
---------------------------------------	---	-----------	----------	------------

Tale posta accoglie il credito per imposte anticipate calcolato principalmente su fondi rischi e oneri (cui si fa rimando) e sulla perdita fiscale IRES riportata a nuovo.

Crediti verso altri € 1.542.177 (2020: € 2.038.536)

Il dettaglio della voce è così composto:

	31.12.2021	31.12.2020
Crediti diversi	1.504	1.878
Crediti verso Istituti di Credito	23	143
Crediti per note spese	11	11
Prestiti al personale	4	7
TOTALE	1.542	2.039

La posta include per € 1.397 mila i crediti relativi a eredità ricevute. Risultano altresì iscritti crediti verso un istituto bancario per € 23 mila riferibili ad operazioni contabilizzate nei primi giorni dell'esercizio 2022.

Disponibilità liquide € 46.465.325 (2020: € 51.292.749)

Depositi bancari e postali € 46.314.110 (2020: € 51.208.262)

La voce comprende depositi di c/c bancario per € 46.314 mila remunerati a tassi di mercato. Non sono inclusi investimenti di nessuna natura o fondi vincolati.

Denaro e valori in cassa € 151.215 (2020: € 84.487)

Rappresentano assegni e numerario di cassa e versamenti disposti in chiusura di esercizio e non contabilizzati dagli Istituti di credito.

RATEI E RISCONTI	€ 4.171.750	(2020: € 4.018.048)
-------------------------	--------------------	----------------------------

Ratei attivi	€ 2.493.178	(2020: € 2.287.993)
---------------------	--------------------	----------------------------

La voce è relativa principalmente alla contropartita contabile dei ricavi per contributi alla ricerca assegnati da Regione Lombardia (€ 823 mila), European Commission (€ 436 mila), Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro (€ 517 mila), Fondazione Umberto Veronesi (€ 196 mila), enti privati (€ 128 mila), Lega Italiana Lotta contro i Tumori (€ 80 mila), AIFA (€ 37 mila).

Risconti attivi	€ 1.678.572	(2020: € 1.730.055)
------------------------	--------------------	----------------------------

La voce include i risconti di costi di competenza dell'esercizio 2022 relativi principalmente a premi assicurativi (€ 1.337 mila), canoni di manutenzione (€ 218 mila), università (€ 58 mila), abbonamenti (€ 26 mila), cattedre (€ 17 mila) e altri (€ 20 mila).

COMMENTO ALLE VOCI DEL PASSIVO**PATRIMONIO NETTO**

Patrimonio Netto € **136.484.733** (2020: € **134.282.231**)

La movimentazione delle poste che costituiscono il patrimonio netto è fornita in allegato:

	31.12.2021	31.12.2020
Capitale sociale	80.579.007	80.579.007
Riserva legale	7.489.374	7.409.764
Fondo ricerca e sviluppo	46.213.850	45.497.356
Utile/(Perdita) dell'esercizio	2.202.502	796.104
TOTALE	136.484.733	134.282.231

Le variazioni rispetto al 31 dicembre 2020 rivengono dall'utile dell'esercizio di € 0,8 milioni.

Il Capitale sociale risulta ripartito in n. 14 quote, ciascuna avente un valore unitario superiore ad € 51.645, come previsto dallo Statuto.

Si precisa, inoltre, che le riserve disponibili, ai sensi del punto n. 5 del I comma dell'art. 2426 C.C., fino a che l'ammortamento dei costi di impianto e ampliamento e di sviluppo non è completato possono essere distribuiti dividendi solo se residuano riserve disponibili sufficienti a coprire l'ammontare dei costi non ammortizzati.

Riserva legale € **7.489.374** (2020: € **7.409.764**)

La riserva accoglie il 10% della destinazione dell'utile degli scorsi esercizi.

Fondo Ricerca e Sviluppo € **46.213.850** (2020 € **45.497.356**)

Trattasi di una riserva costituita come previsto dall'art. 26 dello Statuto incrementatasi a seguito della destinazione del risultato dello scorso esercizio per € 717 mila.

Si fornisce di seguito l'analisi delle voci di patrimonio netto – così come richiesta dall'articolo 2427 del Codice Civile – suddivise in base alla loro origine, alla possibilità di utilizzazione e distribuibilità.

Natura/descrizione	Importo (€ migliaia)	Possibilità di utilizzazione	Quota disponi- bile	Riepilogo delle utilizzazioni effettuate negli ultimi tre esercizi	
				Per copertura perdite	Per altre ragioni
Capitale	80.579				
Riserve di utili:					
Riserva legale	7.489	B	-		
Fondo ricerca e sviluppo	46.214	B	-	-	-

Legenda: A: per aumento di capitale - B: per copertura perdite - C: per distribuzione ai soci

Per il prospetto di movimentazione del Patrimonio netto si fa qui riferimento al prospetto di dettaglio riportato in calce al presente documento.

FONDI PER RISCHI E ONERI

Altri fondi € 9.645.903 (2020: € 8.309.099)

Il fondo rischi e oneri comprende per un importo pari ad € 4.305 mila il Fondo Rischi Assicurativi, il Fondo Abbattimento Crediti SSN per € 3.838 mila, il Fondo imposte differite per € 530 mila e il fondo altri rischi per € 973 mila.

Il Fondo Abbattimento Crediti SSN include una quota a titolo di rettifica sulla produzione per complessivi € 3.838 mila, di cui € 1.092 mila per l'attività di ricovero, € 2.386 mila per le prestazioni ambulatoriali, ed € 360 mila per l'attività di somministrazione di farmaci antitumorali.

Nel corso dell'esercizio 2021, la ATS Città Metropolitana di Milano ha comunicato gli importi riconosciuti relativi alla produzione 2020 per l'attività ambulatoriale, di ricovero e di somministrazione farmaci; si è provveduto pertanto al completo utilizzo del relativo fondo abbattimento crediti SSN accantonato nell'esercizio 2020 contabilizzando altresì sopravvenienze attive per € 6.611 mila.

Il fondo rischi assicurativi incrementa complessivamente di € 352 mila, a fronte di accantonamenti per € 1.040 mila e utilizzi per € 688 mila che hanno comportato sopravvenienze attive per € 373 mila.

Il decremento della voce Altri Fondi rischi è da riferirsi agli utilizzi del fondo rischi per la copertura dei costi di bonifica dell'area prospiciente alla palazzina IEO Office per € 419 mila.

Il fondo imposte differite si riferisce agli effetti riconducibili al disavanzo di fusione per incorporazione con Sogego Srl avvenuta nel dicembre 2020.

Si riporta di seguito il prospetto relativo alla movimentazione dei fondi sopradescritti.

Descrizione	Saldo al 31.12.2020	Utilizzo	Accantonamento	Saldo al 31.12.2021
Fondo abbattimento crediti SSN	2.429	(2.429)	3.838	3.838
Fondo rischi assicurativi	3.953	(688)	1.040	4.305
Altri fondi rischi	1.392	(419)	-	973
Fondo imposte differite	535	(5)	-	530
Altri fondi rischi (personale)	-	-	-	-
	8.309	(3.541)	4.878	9.646

TRATTAMENTO DI FINE RAPPORTO DI LAVORO SUBORDINATO

Trattamento di fine rapporto di lavoro subordinato € 5.232.975 (2020: € 5.215.605)

La voce è stata calcolata in base alle disposizioni della legge n. 297 del 29.5.1982 e successive modificazioni e comprende le quote maturate a favore del personale in essere alla data del 31 dicembre 2021. Dall'esercizio 2007 vengono smobilizzate le quote maturate nel periodo e trasferite ai fondi secondo le modalità previste dal D. Lgs. n. 252 del 5/12/2005.

Con l'istituzione del Fondo per l'erogazione ai lavoratori dipendenti del settore privato dei trattamenti di fine rapporto di cui all'articolo 2120 del Codice Civile (Fondo di Tesoreria gestito dall'INPS per conto dello Stato), i datori di lavoro che hanno alle proprie dipendenze almeno 50 addetti sono obbligati a versare a tale Fondo di Tesoreria le quote di TFR maturate in relazione a quei lavoratori che non abbiano scelto di conferire la propria quota di liquidazione ad un fondo di previdenza complementare. L'importo del Trattamento di Fine Rapporto esposto in bilancio è quindi indicato al netto delle quote versate al suddetto Fondo di Tesoreria INPS e fondi complementari.

Il personale in forza alla data del 31 dicembre 2021 è pari a n. 1.335 unità ed è così ripartito:

	2021	2020
Medici e specializzati	301	302
Altre figure sanitarie		
. dipendenti	653	655
	653	655
Amministrativi		
. dipendenti	381	371
	381	371
Totale (di cui n. 4 con qualifica di dirigente)	1.335	1.328

Nel corso del 2021 il Fondo Trattamento di Fine Rapporto si è così movimentato, in migliaia di Euro:

Saldo al 31.12.2020	Accantonamento	Utilizzi	Tfr su retribuzioni differite (*)	Trasferimenti	Anticipi	Saldo al 31.12.2021
5.216	3.789	(1.076)	22	(2.466)	(252)	5.233

(*) La posta ha come contropartita un debito verso il personale classificato tra gli altri debiti

La voce trasferimenti riguarda il giroconto del TFR al Fondo Tesoreria Inps (€ 1.390 mila), al Fondo CAIMOP (€ 732 mila), al fondo Mario Negri (€ 15 mila) ed a fondi aperti (€ 329 mila).

DEBITI

Tutti i debiti di cui alle poste che seguono hanno scadenze entro i 12 mesi.

Ai sensi del punto 6 art 2427 C.C. si precisa che non sono significativi i debiti verso soggetti appartenenti ad aree geografiche diverse dall'Italia.

Debiti verso fornitori	€ 49.587.060	(2020: € 41.925.688)
-------------------------------	---------------------	-----------------------------

La voce rappresenta quanto dovuto ai fornitori per beni e servizi fatturati (€ 35.919 mila) e da fatturare (€ 13.668 mila), relativi ad acquisti di fattori produttivi, attrezzature e prestazioni di servizi.

Debiti verso imprese controllate	€ 12.611.489	(2020: € 13.889.766)
-----------------------------------------	---------------------	-----------------------------

La posta si riferisce per € 12.501 mila ai debiti verso la controllata Centro Cardiologico Monzino spa relativi all'operazione *cashpooling* oltre a debiti commerciali per servizi resi dalla stessa.

Debiti tributari	€ 4.037.351	(2020: € 2.857.692)
-------------------------	--------------------	----------------------------

I debiti tributari comprendono principalmente € 2.966 mila per ritenute sulle retribuzioni del personale dipendente, € 664 mila per IRAP, € 144 mila per ritenute su compensi di lavoratori autonomi, € 69 mila per debiti IVA, € 61 mila IRES, € 54 mila per ritenute sulle prestazioni derivanti da collaborazioni coordinate e continuative e € 19 mila per ritenute sulle prestazioni derivanti da borsisti.

Debiti verso Istituti di previdenza € 4.435.657 (2020 € 3.968.212)

Rappresentano i debiti verso INPS, FASDAC, Fondo Previdenza Dirigenti Aziende del Commercio, CAIMOP e INAIL, nonché verso i fondi pensione come di seguito riportati.

Descrizione	2021	2020
ISTITUTI DI PREVIDENZA		
- INPS e INAIL	3.538	3.119
- CAIMOP	122	122
- ENPAM MEDICI	85	69
- INPS LAVORATORI AUTONOMI	64	65
- Dirigenti	4	4
FONDI T.F.R.		
- Fondo Tesoreria INPS	273	243
- CAIMOP	215	218
- Fondi Diversi	135	128
TOTALE	4.436	3.968

Nei debiti verso INPS sono compresi i debiti contributivi sulle competenze differite.

Altri debiti 16.376.681 (2020: € 14.378.746)

Tale voce si riferisce principalmente alla libera professione intramoenia (€ 4.121 mila), a debiti per Università LP (€ 2.438 mila), a debiti verso dipendenti per il conguaglio delle retribuzioni del mese di dicembre (€ 2.220 mila), a ferie residue (€ 1.720 mila), a premi di incentivazione (€ 1.602 mila), ad arretrati per rinnovo CCNL (€ 1.239 mila), a debiti legati alle eredità (€ 510 mila), a MBO/Bonus (€ 653 mila), a welfare aziendale (€ 488 mila), a debiti per Università (€ 358 mila), alle refusioni franchigie (€ 329 mila), ad acconti da clienti (€ 329 mila), a debiti per le competenze dei collaboratori progetto (€ 277 mila), a quattordicesima mensilità (€ 27 mila).

Di seguito l'evoluzione dei saldi 2020 – 2021 per le voci soggette a conguaglio.

	Saldo iniziale	Importi erogati	Importo maturato	Saldo finale
Libera Professione dipendenti	3.155	(1.926)	2.892	4.121
Ferie Residue	1.742	(22)		1.720
Premi incentivazione	1.339	(1.226)	1.489	1.602
Arretrati CCNL	919	0	320	1.239
MBO/Bonus	467	(367)	553	653
Quattordicesima	26	(26)	27	27
TOTALE	7.648	(3.567)	5.281	9.362

RATEI E RISCONTI € 20.971.282 (2020: € 21.516.786)

Ratei passivi € 60.000 (2020: € 60.000)

Trattasi di importi relativi principalmente a contratti di assicurazioni.

Risconti passivi € 20.911.282 (2020: € 21.456.786)

La posta include i risconti dei contributi in conto capitale, erogati principalmente dal Ministero della Salute, dalla Fondazione Italiana per la Ricerca sul Cancro e dalla Fondazione IEO – CCM per € 3.306 mila.

Per la restante parte trattasi principalmente di contributi ricevuti da terzi per programmi di ricerca rinviati all'esercizio successivo, sulla base dello stato di avanzamento dei singoli progetti, il cui dettaglio è il seguente:

Ente	Importo
Contributo 5 per 1000	9.279
Ministero della Salute	1.804
European Commission	1.724
AIRC	1.619
Credito d'imposta	1.298
Fondazione IEO-CCM	733
Imprese Private	617
Ricerca corrente	264
FUV	180
FIRC	31
A.I.F.A.	22
Totale	17.571

COMMENTO ALLE VOCI DEL CONTO ECONOMICO

VALORE DELLA PRODUZIONE

Valore della produzione € 258.373.840 (2020: € 226.107.780)

Ricavi delle vendite e delle prestazioni € 207.867.986 (2020: € 180.254.302)

	2021	2020
Degenze SSN	51.477	51.520
Prestazioni ambulatoriali SSN	39.863	37.404
Rimborso farmaci SSN	27.362	20.944
Totale ricavi SSN	118.702	109.868
Degenze solventi	40.136	31.268
Prestazioni ambulatoriali solventi	37.119	27.525
Altri ricavi clinici	114	294
Prestazioni cliniche infragruppo	167	187
Totale ricavi solventi	77.536	59.274
Totale attività medico-sanitaria	196.238	169.142
Contributi funzioni ospedaliere	5.280	4.679
Attività di ricerca – trials	6.327	6.391
Attività di formazione	21	42
TOTALE	207.866	180.254

L'incremento dei ricavi e delle vendite delle prestazioni per complessivi € 27,6 milioni (15,3%) rispetto all'esercizio precedente deriva prevalentemente dall'incremento dell'attività medico sanitaria determinato dai seguenti effetti:

- ✓ un incremento significativo dei ricavi solventi pari ad € 18,3 milioni (30,8%);
- ✓ un incremento dei ricavi SSN pari ad € 8,8 milioni (8,0%), principalmente ascrivibili per € 6,4 milioni al "rimborso farmaci SSN" (ossia dei ricavi per farmaci antitumorali somministrati ambulatorialmente, che vengono rimborsati dal Servizio Sanitario ed il cui costo

è incluso nei costi dei medicinali, ad € 2,4 milioni al decremento delle prestazioni SSN di ambulatorio.

Si segnala che nella voce "Degenze SSN" è compreso l'importo stimato per le maggiorazioni tariffarie ex DGR n. 350 del 2010 per € 2.771 mila (€ 2.496 mila nel 2020).

Per quanto riguarda i dati di attività, nel corso del 2021 sono stati dimessi n. 16.935 pazienti (n. 15.829 nel 2020) di cui n. 12.067 ordinari (n. 10.894 nel 2020), con un incremento significativo dell'attività sia in regime Day-Hospital che in regime Ordinario.

Nell'esercizio 2021, n. 13.385 pazienti (n. 12.843 nel 2020) hanno usufruito della convenzione con il Servizio Sanitario Nazionale, mentre i restanti n. 3.550 (n. 2.986 nel 2020) si riferiscono a pazienti solventi.

I ricavi derivanti dall'attività convenzionata si attestano complessivamente ad € 118,7 milioni (€ 109,9 milioni nel 2020) e rappresentano il 60,5% (65,0% nel 2020) del totale dell'attività medico sanitaria.

Nel corso dell'esercizio, si è provveduto a contabilizzare una nota credito da emettere per € 5.527 mila riferibile alle prestazioni ambulatoriali ed una per € 2.399 mila riferibile alle prestazioni di ricovero eccedenti il *budget* assegnato.

Si segnala altresì che, a fronte di eventuali decurtazioni da parte degli organi di controllo sanitario, è stato effettuato l'accantonamento a Fondo abbattimento crediti SSN per € 3.838 mila, a cui si fa rimando.

La Regione Lombardia ha riconosciuto € 5.280 mila a titolo di rimborso per funzioni non tariffabili (€ 4.679 mila nel 2020).

I ricavi per *trials* clinici (€ 6.327 mila) sono sostanzialmente in linea con lo scorso esercizio (€ 6.391 mila).

Altri ricavi e proventi € 50.505.854 (2020: € 45.853.478)

La voce comprende:

	2021	2020
Contributi per programmi di ricerca	20.401	16.468
Contributi Ricerca 5 per mille	6.723	8.432
Totale contributi per programmi di ricerca	27.124	24.900
Recuperi da terzi	10.703	9.865
Sopravvenienze gestionali	10.488	7.779
Contributi Vari	257	1.348
Ricavi infragruppo	1.333	1.234
Contributo in conto capitale	492	712
Plusvalenze alienazione cespiti	109	15
Totale proventi diversi	23.382	20.953
TOTALE	50.506	45.853

Gli altri ricavi e proventi incrementano per € 4,7 milioni rispetto allo scorso esercizio.

I contributi del Ministero della Sanità per la Ricerca Corrente e Finalizzata, inclusi nei Contributi per programmi di ricerca, ammontano rispettivamente a € 8.600 mila e € 1.287 mila (€ 7.205 mila e € 1.418 mila nel 2020), evidenziando complessivamente un incremento pari al 14,7% rispetto allo scorso esercizio, pari ad € 1.264 mila. Si segnala che nel corso dell'esercizio si è provveduto a riscontare, per € 264 mila, il contributo per Ricerca Corrente 2021 assegnato nel mese di novembre; tale importo si riferisce, secondo le indicazioni ricevute dal Ministero della Salute, ad impegni di spesa assunti entro la fine dell'esercizio.

Sono stati confermati i contributi, seppur con importi variabili rispetto ai precedenti esercizi, dell'Associazione per la Ricerca sul Cancro per € 6.703 mila, da parte della Commissione Europea per € 1.331 mila, della Regione Lombardia € 331 mila, della Fondazione Umberto Veronesi per € 329 mila, del Ministero della Salute per € 325 mila, della Fondazione Italiana per la ricerca sul cancro per € 280 mila, della Fondazione IEO – CCM per € 323 mila, i rimanenti contributi sono stati erogati da altri Enti italiani ed internazionali.

L'importo di competenza dei contributi in conto capitale è pari ad € 492 mila.

Risultano iscritti contributi relativi al contributo 5 per mille sulle dichiarazioni dei redditi relativi diverse campagne per € 6.723 mila come riepilogato nella tabella seguente:

	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	residui	totale
Campagna 2006 (redditi 2005)	2.200	2.335	2.382	929												7.846
Campagna 2007 (redditi 2006)		1.000	2.000	1.078	1.838	744										6.660
Campagna 2008 (redditi 2007)			1.670	3.260	943											5.873
Campagna 2009 (redditi 2008)				4.635	580											5.215
Campagna 2010 (redditi 2009)					4.802	74										4.876
Campagna 2011 (redditi 2010)						3.941	766									4.707
Campagna 2012 (redditi 2011)							2.556	823								3.379
Campagna 2013 (redditi 2012)								4.857								4.857
Campagna 2014 (redditi 2013)									3.610	693						4.303
Campagna 2015 (redditi 2014)										5.049	1.458					6.507
Campagna 2016 (redditi 2015)											5.477	1.207	-			6.684
Campagna 2017 (redditi 2016)												6.530	658		-	7.188
Campagna 2012 MIUR												641	-		-	641
Campagna 2014 MIUR												11	487	500	20	1.018
Campagna 2018 (redditi 2017)													7.287	-	-	7.287
Campagna 2019 (redditi 2018)													-	6.223	1.567	7.790
Campagna 2020 (redditi 2019)														-	7.691	7.691
Totale	2.200	3.335	6.052	9.902	8.163	4.759	3.322	5.680	3.610	5.742	6.935	8.389	8.432	6.723	9.278	92.522

I recuperi da terzi comprendono i riaddebiti di spese per € 4.573 mila, per € 2.923 mila contributi della Fondazione IEO – CCM, i contributi di affitto IEO Day Centre per € 1.090 mila, i ricavi per parcheggi per € 766 mila, addebiti vari ai pazienti per € 117 mila, i ricavi per la ristorazione per € 66 mila, e i ricavi per servizi vari per € 1.168 mila.

I ricavi infragruppo si riferiscono nel 2021 principalmente al riaddebito di quota parte del compenso dell'Amministratore Delegato, Direzioni centrali alla controllata Centro Cardiologico Monzino S.p.A. alla luce dell'assetto organizzativo del gruppo.

Le sopravvenienze attive gestionali sono costituite da maggiori riconoscimenti di ATS Città di Milano e Regione Lombardia a valere sullo scorso esercizio (per attività ambulatoriale € 3,9, drg € 2,4 milioni, funzioni ospedaliere € 1,5 milioni, "File F" 2020 € 0,3 milioni), da note credito su costi degli esercizi precedenti (€ 1,2 milioni), da maggiori ricavi derivanti da esercizi precedenti (€ 0,5 milioni), dalla proventizzazione del fondo rischi assicurativi (€ 0,4 milioni).

COSTI DELLA PRODUZIONE

Costi della produzione € 255.541.284 (2020: € 230.660.340)

	2021	2020
Materie prime, sussidiarie, di consumo e merci	62.340.716	52.237.261
Variazione delle rimanenze	569.491	249.011
TOTALE	62.910.207	52.486.272

I consumi di merci, connessi all'attività svolta sono dettagliati come segue:

	2021	2020
Medicinali	32.693	26.366
Presidi sanitari	28.199	24.372
Materiali di consumo	647	525
Emocomponenti	1.371	1.223
TOTALE	62.910	52.486

I consumi, rispetto allo scorso esercizio incrementano complessivamente del 19,9% (€ 10,4 milioni). Il consumo dei farmaci incrementa di € 6,3 milioni, dei parafarmaci di € 3,8.

Costi per servizi € 59.498.507 (2020: € 53.730.498)

Comprendono le seguenti voci:

	2021		2020	
Appalti per servizi di:				
. Ristorazione	2.314		1.941	
. Pulizia e disinfestazione	2.128		2.043	
. Gestione stabulario	698		722	
. Lavanderia	525		491	
. Vigilanza	506		503	
. Smaltimento rifiuti	458		345	
. Gestione Impianti	287		573	
. Gas medicali	267		198	
. Trasporto del personale	210		209	
. Servizi Scientifici	174		200	
		7.567		7.225
Consulenze e prestazioni professionali		15.747		14.962
Manutenzioni diverse		13.243		11.778
Convenzioni Universitarie		10.853		8.789
Utenze		3.848		3.641
Borse di studio dirette		2.286		2.081
Assicurazioni		2.207		1.821
Emolumenti agli Organi Sociali		936		936
Altri servizi e collaborazioni d'ufficio		757		768
Pubblicità e promozione		645		530
Viaggi, riunioni, congressi e formazione		626		455
Oneri bancari per carte di credito e altre commissioni		286		273
Prestazioni cliniche intragruppo		196		205
Spese postali		186		149
Trasporti		109		100
Varie		7		15
Attività convegnistica istituzionale		-		2
Documentazione tecnica		-		-
		51.932		46.505
TOTALE		59.499		53.730

I costi per servizi evidenziano, rispetto allo scorso esercizio, un incremento complessivo del 10,7% pari ad € 5.769 mila legato alla ripresa dell'attività dopo gli effetti della pandemia.

Si evidenziano incrementi relativi alle convenzioni universitarie per € 2.064 mila, al costo delle manutenzioni per € 1.465 mila, alle consulenze e prestazioni professionali per € 785 mila, alle assicurazioni per € 386 mila, alla ristorazione del personale per € 373 mila, al costo delle utenze per € 207 mila, alle borse di studio dirette per € 205 mila, ai viaggi riunioni e congressi per € 171 mila, alla pubblicità per € 115 mila, allo smaltimento rifiuti per € 113 mila e alla pulizia e disinfestazione per € 85 mila.

La partita "Emolumenti agli organi sociali" comprende i compensi spettanti al Consiglio di Amministrazione (€ 850 mila), al Collegio Sindacale (€ 55 mila), nonché al costo dell'Organo di Vigilanza (€ 31 mila).

Gli onorari riconosciuti alla società di revisione rientrano nella voce altri servizi e collaborazioni di ufficio per € 61 mila, di cui € 40 mila per la revisione contabile e la sottoscrizione delle dichiarazioni fiscali, € 12 mila per la redazione del Bilancio sociale, € 4 mila per le procedure di verifica 350, € 3 mila per le procedure concordate per la verifica dei costi sostenuti per il personale dipendente impiegato nei programmi di ricerca e sviluppo ammessi alla deduzione IRAP ed e € 2 mila per la verifica sul bilancio XBRL.

Costi per godimento di beni di terzi	€ 6.741.309	(2020: € 6.792.740)
---------------------------------------------	--------------------	----------------------------

Tali costi sono relativi principalmente a canoni d'affitto IEO Day Centre (€ 3.991 mila), canoni d'affitto per laboratori di ricerca presso il Campus IFOM – IEO (€ 1.655 mila), noleggio elettromedicali (€ 236 mila), noleggio autovetture (€ 229 mila), affitto ambulatori IEO centro (€ 158 mila), altri affitti e noleggi (€ 146 mila), affitto via Lampedusa (€ 108 mila), noleggio attrezzature scientifiche (€ 60 mila), noleggi attrezzature d'ufficio (€ 56 mila), affitto Mirasole (€ 53 mila) e concessioni (€ 12 mila).

Costo per il personale € 91.393.997 (2020: € 83.932.582)

La voce comprende i costi sostenuti per le prestazioni di lavoro subordinato e lavoro interinale.

	€ per migliaia		Forza media	
	2021	2020	2021	2020
Retribuzioni e oneri accessori				
. Medici e laureati specializzati sanitari e di ricerca non medici	44.910	40.114	304	304
. Altre figure tecnico sanitarie				
Personale dipendente	29.808	28.082	653	653
. Amministrativi				
Personale dipendente	16.634	15.706	377	374
	91.352	83.902	1.334	1.331
Altri costi del personale	42	31	-	-
TOTALI	91.394	83.933	1.334	1.331

Il costo del personale dipendente incrementa per € 7.461 mila (8,9%).

L'aumento complessivo del costo per il personale è principalmente riferibile per € 4.796 mila (12,0%) all' incremento del costo per i medici, per € 1.726 mila (6,1%) all'incremento nel costo per i sanitari e per € 928 mila (5,9%) all' incremento del costo del personale amministrativo. L'aumento del costo per i medici è ascrivibile per € 3.876 mila ai maggiori riconoscimenti sull'attività libero professionale legata alla ripresa dell'attività a seguito dell'andamento della pandemia.

Il costo è comprensivo dell'accantonamento per rinnovi contrattuali pari a € 412 mila (€ 323 mila per medici e laureati specializzati, € 60 mila per altre figure sanitarie, ed € 29 mila per amministrativi).

La voce "Amministrativi" include anche il personale amministrativo a supporto dell'attività clinica e di ricerca (servizio accettazione, segreterie di reparto, personale di *reception*, centralino, servizi generali, sistemi informativi, *data manager*) che costituisce i due terzi del personale amministrativo dell'Istituto.

Gli "Altri Costi del Personale" si riferiscono principalmente a importi erogati nel corso dell'anno.

Ammortamento delle immobilizzazioni immateriali	€ 1.506.699	(2020: € 1.359.493)
--------------------------------------------------------	--------------------	----------------------------

Ammortamento delle immobilizzazioni materiali	€ 9.786.182	(2020: € 9.817.507)
------------------------------------------------------	--------------------	----------------------------

Svalutazioni dei crediti compresi nell'attivo circolante e delle disponibilità liquide

€ 1.373.203	(2020: € 710.614)
--------------------	--------------------------

La voce si riferisce all'accantonamento in previsione del possibile rischio di inesigibilità relativo ai crediti solventi e a taluni crediti commerciali.

Accantonamenti per rischi	€ 4.877.866	(2020: € 4.671.163)
----------------------------------	--------------------	----------------------------

La posta include un importo pari ad € 3.838 mila relativo a stime su abbattimenti a fronte di crediti in essere dei quali non risulta determinato a tutt'oggi l'esatto ammontare incassabile relativi ad attività di ricovero, ambulatoriale e di somministrazione di farmaci antitumorali.

Si segnala che, alla luce dell'evoluzione della normativa regionale, l'Istituto ha provveduto ad appostare note di credito a storno della produzione non riconosciuta per complessivi € 7.926 mila, riferibili alle prestazioni ambulatoriali (€ 5.527 mila) e di ricovero (€ 2.399 mila).

Nella posta contabile sono inclusi, inoltre, l'accantonamento al fondo rischi ed oneri a fronte di ulteriori eventuali rischi nei confronti di richieste di danni avanzati dai pazienti (€ 1.040 mila).

Oneri diversi di gestione

€ 17.453.314

(2020: € 17.159.471)

Sono costituiti dalle seguenti voci:

	2021	2020
Sopravvenienze passive e insussistenze dell'attivo	1.944	2.693
Oneri contributo INPS 10%	616	634
Contributo cattedre universitarie	548	485
Libri e giornali	353	265
Quote associative	102	102
Oneri contributo ENPAM	85	75
Altri	80	9
Totale	3.728	4.263
Imposte e tasse:		
. IVA indetraibile (pro-rata)	12.749	11.799
. IMU	628	629
. Tassa smaltimento rifiuti	253	271
. Altre	94	197
Totale	13.724	12.896
TOTALI	17.452	17.159

L'aliquota di indetraibilità dell'IVA si attesta all'81%, evidenziando un decremento di n. 2 punti percentuali rispetto all'esercizio precedente.

Le insussistenze di attivo considerano per € 1.280 mila il *write-off* di fabbricati e impianti propedeutico alla realizzazione del Proton Centre.

Nel corso dell'esercizio sono stati erogati contributi liberali alla SEMM (Scuola Europea di Medicina Molecolare) per € 80 mila.

PROVENTI E ONERI FINANZIARI

Proventi e oneri finanziari	€ (43)	(2020: € (220.712))
------------------------------------	---------------	----------------------------

Proventi da partecipazioni	€ 167.007	(2020: € -)
-----------------------------------	------------------	--------------------

La voce considera il dividendo incassato di Genextra.

Da titoli iscritti nell'attivo circolante che non costituiscono partecipazioni

€ -	(2020: € 4.581)
------------	------------------------

La voce lo scorso esercizio considerava gli interessi relativi all'obbligazione iscritta tra gli Altri titoli.

Interessi e commissioni da altri e proventi vari	€ 28.220	(2020: € 10.102)
---------------------------------------------------------	-----------------	-------------------------

La voce si riferisce principalmente per € 19 mila agli interessi riconducibili all'operazione di cessione del credito "salva Italia" e per € 7 mila agli interessi attivi maturati sul c/c .

Interessi e altri oneri finanziari verso controllate	€ 52.727	(2020: € 59.757)
-------------------------------------------------------------	-----------------	-------------------------

La posta considera gli interessi passivi pari allo 0,4% annuo maturati in seguito all'attivazione del *cash pooling* verso la controllata Centro Cardiologico Monzino SpA.

Interessi e altri oneri finanziari	€ 124.745	(2020: € 156.814)
-------------------------------------------	------------------	--------------------------

Sono costituiti principalmente da € 60 mila per oneri su fideiussioni, da € 64 mila da sconti e abbuoni passivi.

Utili e perdite su cambi	€	(17.798)	(2020	€	(18.824))
--------------------------	---	----------	-------	---	-----------

La voce considera le differenze cambi sia positive sia negative sulle partite in valuta.

RETTIFICHE DI VALORE DI ATTIVITÀ FINANZIARIE

Rivalutazioni partecipazioni	€	650.947	(2020: €	2.338.905)
------------------------------	---	---------	----------	------------

La voce accoglie il parziale ripristino di valore – nell'ambito di precedenti valutazioni – del costo storico di acquisto della controllata Centro Cardiologico Monzino S.p.A. pari al risultato dell'esercizio 2021 della stessa per € 265 mila ed il parziale ripristino di valore di Genextra per € 386 mila.

Svalutazioni titoli iscritti nell'attivo circolante	€	-	(2020: €	46.668)
-----------------------------------------------------	---	---	----------	---------

La posta lo scorso esercizio accoglieva la svalutazione effettuata in relazione a Genextra.

IMPOSTE SUL REDDITO DELL'ESERCIZIO CORRENTI, DIFFERITE ED ANTICIPATE

Imposte sul reddito dell'esercizio, correnti, differite ed anticipate

Imposte correnti	€	966.590	(2020: €	(171.173))
------------------	---	---------	----------	------------

Le imposte correnti di competenza dell'esercizio sono relative ad IRAP per € 917 mila e ad IRES per € 61 mila. Tale voce ricomprende inoltre le sopravvenienze relative alle imposte riferibili allo scorso esercizio per complessivi € 11 mila. Residuano al 31 dicembre 2021 perdite riportabili per circa € 2,1 milioni.

Si segnala che dal 2013 l'Amministrazione finanziaria, in risposta ad interpelli predisposti, ha ritenuto che l'Istituto potesse fruire della riduzione di metà dell'aliquota IRES così come previsto dall'art. 6, comma 1, lettera a) del D.P.R. n. 601 del 1973 che prevista per gli enti ospedalieri.

Di seguito si fornisce il prospetto di riconciliazione dell'aliquota fiscale teorica ed effettiva al netto dell'imposta anticipata:

	Esercizio 2021			Esercizio 2020		
	Imponibile	Imposta	Aliquota	Imponibile	Imposta	Aliquota
			%			%
IRAP						
Valori teorici	100.278	3.911	3,90%	84.762	3.306	3,90%
Variazione in aumento	20.264	790	0,79%	18.179	709	0,84%
Variazioni in diminuzione	(97.021)	(3.784)	(3,77)%	(96.451)	(3.762)	(4,44)%
Valori effettivi IRAP	23.520	917	0,91%	6.490	253	0,30%
1° Acconto 2020 non versato					(101)	(0,12)%
Valori effettivi al netto del 1° acconto non versato	23.520	917	0,91	6.490	152	0,18%
IRES						
Valori teorici	3.576	858	24,00%	796	191	24,00%
Variazione in aumento	9.872	2.369	66,26%	9.068	2.176	276,36%
Variazioni in diminuzione	(8.233)	(1.976)	(55,26)%	(16.149)	(3.876)	(484,84)%
Valori effettivi IRES	5.214	1.251	35,00%	(6.285)	(1.508)	(189,48)
Utilizzo perdite pregresse	(4.171)	(1.001)	(28,0)%			
Deduzione ACE	(684)	(164)	(4,59)%	(352)	(84)	(10,61)%
Totale IRES	359	86	2,41%	(6.637)	(1.593)	
Impatto Ires agevolato	58,52%					
	210	25	12,00%	0	0	12,00%
Impatto Ires non agevolato	41,48%					
	149	36	24,00%	0	0	24,00%
Valori effettivi IRES Agevolato	359	61	1,71%		0	

(*) I dati di confronto relativi al 2020 sono quelli riportati nella dichiarazione Redditi 2021 (periodo d'imposta 2020)

Imposte differite e anticipate	€	314.368	(2020: € (3.105.966))
---------------------------------------	----------	----------------	------------------------------

Nella voce Fondi Rischi ed oneri, cui si fa rimando, sono iscritte imposte differite (€ 530 mila) a seguito degli effetti riconducibili al disavanzo di fusione per incorporazione con Sogego Srl avvenuta nel dicembre 2020.

La voce crediti per imposte anticipate (€ 2.794 mila), cui si fa rimando, è stata iscritta tenendo conto della movimentazione dei fondi e della perdita fiscale.

migliaia di euro

Descrizione	Esercizio 2021		
	Imponibile	Imposta	Aliquota Effettiva
			%
IMPOSTE DIFFERITE			
Disavanzo di fusione allocato su fabbricato 1/1/2021 non riconosciuto fiscalmente	2.549	535	21,00%
Ammortamento indeducibile 2021	(26)	(5)	21,00%
Disavanzo di fusione allocato su fabbricato 31/12/2021 non riconosciuto fiscalmente	2.523	530	
IMPOSTE ANTICIPATE			
Fondo per rischi ed oneri 1/1/2021	7.774	1.633	21,00%
Utilizzi	(3.536)	(742)	
Accantonamenti	4.878	1.024	
Fondo per rischi ed oneri 31/12/2021	9.116	1.914	
Fondo svalutazione Crediti 1/1/2021	1.231	210	17,10%
Utilizzi	(1.091)	(187)	
Accantonamenti	1.118	191	
Fondo svalutazione Crediti 31/12/2021	1.258	215	
Fondo rischi per adeguamento CNL 1/1/2021	1.033	217	21,00%
Utilizzi			
Accantonamenti	412	87	
Fondo rischi per adeguamento CNL 31/12/2021	1.445	303	
ACE 1/1/2021	352	60	17,10%
Utilizzi	(352)	(60)	
Accantonamenti	0	0	
ACE 31/12/2021	0	0	
Perdita fiscale IRES 1/1/2021	5.814	994	17,10%
Utilizzi	(4.171)	(713)	
Accantonamenti 2021	472	81	
Perdita fiscale IRES 31/12/2021	2.114	1.054	17,10%
TOTALE IMPOSTE ANTICIPATE	13.933	2.794	
CREDITO IMPOSTE ANTICIPATE		2.794	
IMPATTO NETTO IMPOSTE ANTICIPATE		(320)	

Impegni, garanzie e passività potenziali non risultanti dallo stato patrimoniale

Si riporta di seguito il dettaglio degli impegni, delle garanzie e delle passività potenziali non risultanti dallo stato patrimoniale al 31 dicembre 2021.

Fideiussioni a favore di terzi € 6.900.812 (2020: € 7.814.186)

La composizione è la seguente:

Natura	Beneficiario	Importo
Finanziamento cattedre	Università di Milano	6.057
Contributi per la ricerca	Ministero Istruzione	312
Locazione laboratori di ricerca via Serio	Fabrica Immobiliare	377
Bollo Virtuale	Ministero delle Finanze	155
TOTALE		6.901



Riportiamo di seguito le informazioni richieste per l'esercizio 2021 dall'Art. 1, comma 125, della legge 4 agosto 2017, n. 124 relative agli incassi ricevuti nell'esercizio.

Ente Erogante	Causale	Data	Totale
ATS Città di Milano	Funzioni 2021	26.01.2021	389.950
		19.02.2021	21.670
		24.02.2021	411.620
		24.03.2021	411.620
		13.10.2021	1.234.860
		16.11.2021	1.851.410
		25.11.2021	479.930
	22.12.2021	479.930	
Totale ATS Città di Milano			5.280.990
Ministero della Salute	Contributo in conto capitale	14.07.2021	226.682
	Ricerca Finalizzata	25.05.2021	352.796
		07.07.2021	544.594
		08.07.2021	85.538
		30.09.2021	474.719
		01.10.2021	59.400
		11.10.2021	67.400
		19.11.2021	223.998
	5*1000 2020	19.10.2021	7.691.160
	Ricerca Corrente 2021	30.06.2021	3.279.808
17.12.2021		4.785.460	
Totale Ministero della Salute			17.791.555
Totale complessivo			23.072.545



Informazioni complementari

Per una maggiore informativa sulle variazioni intervenute nell'esercizio nella situazione patrimoniale e finanziaria, si allega il Prospetto di movimentazione del patrimonio netto.

PROSPETTO DI MOVIMENTAZIONE PATRIMONIO NETTO

	Capitale Sociale	Riserva sovrapprezzo quote	Riserva legale	Fondo Ricerca e Sviluppo	Riserva statutaria	Utile (Perdita) eser.prec.	Utile (Perdita) Esercizio	TOTALE
Saldi 31.12.2016	80.579		4.343	17.897			7.806	110.625
Destinazione risultato d'esercizio 2016			781	7.025			(7.806)	
Utile (Perdita) d'esercizio 2017							5.975	5.975
Saldi 31.12.2017	80.579		5.124	24.922			5.975	116.600
Destinazione risultato d'esercizio 2017			597	5.378			(5.975)	
Utile (Perdita) d'esercizio 2018							8.519	8.519
Saldi 31.12.2018	80.579		5.721	30.300			8.519	125.119
Destinazione risultato d'esercizio 2018			852	7.667			(8.519)	
Utile (Perdita) d'esercizio 2019							8.367	8.367
Saldi 31.12.2019	80.579		6.573	37.967			8.367	133.486
Destinazione risultato d'esercizio 2019			837	7.530			(8.367)	
Utile (Perdita) d'esercizio 2020							796	796
Saldi 31.12.2020	80.579		7.410	45.497			796	134.282
Destinazione risultato d'esercizio 2020			79	717			(796)	
Utile (Perdita) d'esercizio 2021							2.203	2.203
Saldi 31.12.2021	80.579		7.489	46.214			136.485	136.485