



Istituto Europeo di Oncologia S.r.l.

Bilancio d'esercizio al 31 dicembre 2023

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 2023, 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 2023, 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 2023, 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 2023 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 2023 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, 6 aprile 2024

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 € 3.685.073 (€ 3.591.678 nel 2022) considerato l'impatto negativo di imposte per tassazione corrente e differita per € 1.069.069 (€ 1.636.481 nel 2022), nonché ammortamenti e svalutazioni per complessivi € 15.139.325 (€ 13.198.517 nel 2022) e comprensivo del ripristino di valore per € 1.043.295 (€ 1.009.604 nel 2022) della controllata Centro Cardiologico Monzino S.p.A.

Attività societaria

Nel corso dell'esercizio l'attività clinica ha continuato la ripresa, sia sui ricavi clinici solventi (+ 14,7% rispetto al 2022) sia su quelli SSN (+ 9,1% rispetto al 2022, soprattutto per il "File f").

Per il quarto 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 2024", in quarta posizione in Europa e in sedicesima posizione nel ranking mondiale dei migliori ospedali per l'area oncologica.

Si tratta di un significativo e ormai consolidato 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.

Con riferimento ai progetti di sviluppo della struttura, il Progetto Protoni ha raggiunto compimento con l'ottenimento di tutte le autorizzazioni e dell'accreditamento e con l'inizio dell'attività di trattamento per la prima paziente a fine Novembre 2023. La maggior disponibilità di trattamenti oncologici ad altissima tecnologia ed efficacia clinica costituisce un rilevante risultato per l'Istituto, da cui trarranno giovamento

pazienti della Regione Lombardia, dell'Italia e anche di altri Paesi Europei, che stanno già inviando pazienti all'Istituto. E' motivo di orgoglio per tutta la struttura per il personale poter offrire un'ulteriore opportunità di guarigione ai pazienti, mantenendo per l'Istituto la leadership tecnologica nel settore.

Il progetto IEO3 sta procedendo nei tempi previsti e ospiterà nuove, più ampie e più numerose sale operatorie oltre alla nuova Farmacia Ospedaliera, a partire dal 2025. Inoltre nuovi spazi di degenza sono stati predisposti nell'anno.

I Trials Clinici per la sperimentazione di nuovi farmaci oncologici continuano ad ampliarsi in volume e valore come previsto, con vantaggi per i pazienti che possono avere a disposizione le terapie più innovative come risorsa ulteriore rispetto alle terapie correnti. La collaborazione di tutta l'Area Clinica e di Ricerca, focalizzatesi su questo sviluppo, ha reso possibile un significativo avanzamento nella gestione complessiva di questo processo e quindi nei risultati. Questa attività è gestita con il massimo rispetto sia dei principi etici di cura e tutela del paziente sia della riservatezza dei dati.

Proseguono gli investimenti in attrezzature d'avanguardia per mantenere l'altissimo livello tecnologico a supporto dell'attività di Ricerca e Clinica a favore dei pazienti. Nell'anno si segnalano l'attivazione di una Tomografia Assiale Computerizzata (TAC) di ultima generazione ed in supporto alla Radioterapia oltre a significativi investimenti di efficientamento energetico quali l'installazione di un impianto fotovoltaico su IEO2 ed il relamping, introducendo su larga scala impianti d'illuminazione a bassissimo consumo energetico.

Nell'ambito del sempre più ampio processo di digitalizzazione delle attività cliniche, il progetto Biobanca, avviato nel 2022 con la digitalizzazione dei dati dell'Anatomia Patologica e certificazione, è in evidente crescita. Quest'attività con un simile livello tecnologico non ha pari in Italia e viene offerta, come servizio, anche a Società terze e ad altri Ospedali che, con l'accresciuta domanda, ne certificano la validità clinica. Per l'Istituto è stata inoltre attivata la Clinical Data Platform, un "health Data Lake" centralizzato che racchiude i dati clinici, amministrativi e di ricerca che, a fine 2023, raccoglieva 79 GigaByte di dati, una massa significativa in costante crescita. Tramite algoritmi di Intelligenza Artificiale, questi dati clinici, precedentemente in distinti database, vengono ora gestiti in modo strutturato ed unitario per elaborare le migliori terapie personalizzate per i pazienti, bilanciando la tutela dei diritti di questi con le esigenze dell'evoluzione delle conoscenze scientifiche in campo oncologico. La tutela della privacy dei pazienti, anche in questo progetto, è un elemento di assoluta rilevanza.

Nel 2023 la piattaforma Value-Based Medicine, basata sulla Clinical Data Platform, è inoltre risultata vincitrice del premio "Innovazione in Sanità Digitale", assegnato da AGENAS ai migliori progetti di "digital health" sviluppati e portati avanti sul territorio.

A seguito dell'attacco informatico da parte di criminali internazionali nel mese di aprile 2021, è proseguito anche nel 2023 il significativo impegno progettuale, tecnico ed economico di rafforzamento del monitoraggio IT e del contrasto alla pirateria informatica dal punto di vista 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. Questa situazione è stata gestita anche come un'opportunità per ripensare l'approccio all'attività complessiva dal punto di vista dell'informatizzazione, che sta divenendo sempre più un punto di forza dell'Istituto, anche e soprattutto in ottica prospettica.

È ormai consolidata l'esperienza del Bilancio di Sostenibilità, sviluppato da vari anni e dall'inizio sottoposto a revisione esterna, con obiettivo non solo di comunicare le valutazioni di impatto sociale dell'attività svolta dall'Istituto ma anche di porsi degli obiettivi di rispetto dell'ambiente, di supporto allo sviluppo sociale e di trasparenza della "governance" della società, sempre in base ai valori etici e sociali che ne caratterizzano l'operatività.

L'esercizio registra un incremento dei ricavi per complessivi € 26,2 milioni, riferibile principalmente per € 12,1 milioni all'incremento dell'attività solvente, per 11,0 € milioni all'incremento dell'attività SSN di cui € 10,7 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), € 0,2 milioni relativo alle prestazioni di ricovero, per € 2,0 milioni all'incremento dei ricavi per trials clinici, per € 0,6 milioni all'incremento dei riconoscimenti per "Funzioni non tariffabili"; decrementano i recuperi da terzi per € 3,0 milioni e le sopravvenienze attive per € 1,8 milioni.

L'incremento dei costi di produzione è stato complessivamente pari ad € 27,3 milioni.

Con riferimento ai dati relativi all'attività clinica 2023, i pazienti dimessi (ordinari e *day-hospital*) sono stati n. 17.730 (n. 16.550 nel 2022) per un totale di n. 46.820 giorni di degenza (n. 45.822 nel 2022).

L'attività chirurgica si è attestata a n. 14.416 interventi (n. 12.769 in anestesia generale e n. 1.647 in anestesia locale), con un incremento (5,70%) rispetto al 2022 (n. 13.639 interventi nel 2022).

L'attività di chirurgia robotica mini invasiva si è attestata n. 1.224 interventi (n. 1.168 nel 2022). Si segnala altresì che gli interventi in regime di *Day-Surgery* effettuati nelle strutture dello IEO *Day Centre* nel 2023 sono stati n. 5.384 (n. 4.367 nel 2022).

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 sulla maggioranza delle patologie è presente con elevati volumi di attività. Nello specifico è leader a livello nazionale come volumi per mammella, e al

secondo posto per: prostata, polmone, utero, ovaio, cavo orale. 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 2023 si riferiscono all'anno di attività 2022 e consentono di valutare le implicazioni della pandemia in Italia e per l'Istituto.

Nel corso dell'esercizio, l'Istituto ha provveduto alla riclassificazione ai sensi della DGR 7044/2022 della Medicina di Laboratorio, che ora è strutturata in 3 Laboratori specialistici (Laboratorio Clinico Generale, Laboratorio di Anatomia Patologica, Laboratorio di Genetica Medica) e un Laboratorio ultraspecialistico di Emolinfopatologia. Quest'ultimo, riconosciuto dalla Regione come Centro ultraspecialistico di riferimento per la diagnostica emolinfopatologica, è in grado di offrire ai massimi livelli internazionali "prestazioni di elevatissima complessità" per la diagnosi dei tumori del sistema emolinfopoietico: leucemie, linfomi, mielomi.

Nel mese di febbraio, il Centro di Eccellenza IEO per le neoplasie neuroendocrine dell'apparato digerente ha conseguito, con successo, la ri-certificazione ENETS (European Neuroendocrine Tumor Society), confermando l'elevata qualità delle cure offerte. Questo riconoscimento ha permesso all'Istituto di ottenere, per la prima volta, anche l'accreditamento come Centro di Eccellenza per i tumori neuroendocrini polmonari.

Un nuovo accreditamento è stato ottenuto, nel maggio 2023, anche dalla Radiologia Interventistica che risulta essere tra i primi centri accreditati a livello internazionale dall'International Accreditation System for Interventional Oncology Services (IASIOS). Ciò rappresenta un importante risultato poiché IEO è stato in grado di dimostrare, attraverso la revisione di procedure, casistica ed indicatori, il raggiungimento di elevati standard di qualità e sicurezza.

Nell'ambito del miglioramento continuo della qualità, nel mese di aprile, IEO ha ricevuto una visita di sorveglianza, secondo la norma ISO 9001:2015, finalizzata alla valutazione dei principali processi relativi a ricerca, diagnosi e cura.

Infine, nell'ottobre dello stesso anno, il Programma di Senologia ha superato con esito positivo la visita di certificazione internazionale condotta dalla European Society of Breast Cancer Specialists (EUSOMA), attestando l'eccellenza della Breast Unit IEO.

Quanto è emerso da tutte le visite di certificazione ed accreditamento è un marcato impegno dell'Istituto verso la qualità e una diffusa adesione alla cultura della sicurezza da parte di tutto il personale.

Nel 2023 è proseguita l'attività di stesura e condivisione dei Percorsi Diagnostici, Terapeutici ed Assistenziali (PDTA) secondo quanto previsto dalla vigente normativa nazionale e regionale.

I PDTA, oltre ad essere stati elaborati da un gruppo multiprofessionale e multidisciplinare, sono stati condivisi con le principali Associazioni di pazienti che hanno contribuito a meglio definire il percorso di diagnosi e cura nell'ottica di un sempre maggiore coinvolgimento ed *empowerment* del paziente.

Il costante miglioramento della qualità è sostenuto anche da un programma annuale di *internal audit*, attivo dal 2002, che consente di verificare tutti i principali processi al fine di stabilire in quale misura gli standard, le procedure e gli obiettivi di qualità vengano soddisfatti.

Pertanto, nel corso dell'esercizio, sono stati condotti 20 audit riguardanti la sicurezza del paziente, la gestione dei farmaci, la chirurgia sicura, la prevenzione e il controllo delle infezioni, la sicurezza delle infrastrutture.

Contesto di mercato

Superati gli effetti negativi della pandemia sui ricavi ma non quelli sui costi operativi, il 2023 ha visto un aumento dell'attività clinica rispetto al 2022 ma ancora inferiore al 2019 per i pazienti extraregionali mentre l'attività in Solvenza ha continuato a progredire rispetto ai livelli del 2022, già superiori a quelli del 2019, in ambito sia Ricoveri sia Ambulatoriale. L'erogazione di prestazioni ambulatoriali ai pazienti Regionali ha superato nuovamente il tetto Regionale di rimborsi anche grazie al recupero di pazienti che avevano rinviato prevenzione e follow up in periodo pandemico ed all'incremento esponenziale dei controlli/follow up per una patologia sempre più cronicizzante. I ricavi relativi all'attività su pazienti extraregionali risentono, come negli ultimi anni, dei costi ormai stabilmente elevati per la mobilità infraregionale e di un trend che, pur mostrando un certo consolidamento, l'Istituto sta contrastando anche con una sempre rinnovata offerta di servizi tramite telemedicina, diagnostica a distanza e rafforzando ulteriormente progetti quali Medici nella Tua Città, che tocca un numero sempre maggiore di città italiane.

Un grande limite rispetto alla possibilità di poter adeguare l'offerta di prestazioni alla domanda crescente legata alla progressiva senescenza della popolazione ed all'aumento di cittadini affetti da patologie cronico degenerative, è rappresentato dal blocco dei budget delle strutture di diritto privato, attestato sui valori del 2011. La Regione Lombardia, tramite ATS Milano, ha posto anche nel 2023 a tutte le strutture

accreditate alcuni obiettivi di riduzione delle liste d'attesa e di altre performance cliniche, il tutto all'interno dei medesimi tetti di rimborso stabiliti molti anni fa. Questo ha provocato, per converso, una maggior penalizzazione degli Istituti con maggiore qualità e attrattività per i pazienti. In ogni caso, l'Istituto ha posto il massimo impegno per conseguire gli obiettivi assegnati, riducendo sensibilmente le liste d'attesa e rafforzando quanto più possibile l'attenzione ai pazienti lombardi, pur mantenendo l'eccellenza delle prestazioni fornite.

Pur con grande attenzione ai flussi finanziari di cassa, dimostrata dalla Posizione Finanziaria Netta positiva, sono stati attuati gli investimenti seguendo la crescita prevista nei piani ed il mantenimento di un livello tecnologico di assoluta eccellenza. L'incremento dei tassi finanziari d'interesse ha finalmente permesso di impiegare la liquidità in strumenti finanziari, pur a basso rischio, facilmente liquidabili e a breve termine, in coerenza con il profilo degli Istituti e con il significativo piano d'investimenti in atto, con ritorni finanziari interessanti.

La produzione scientifica è proseguita superando i livelli record di Impact Factor conseguiti nel 2022. Tuttavia i contributi di Ricerca Corrente per l'Istituto sono in riduzione rispetto al 2022, sia per l'incremento del numero di IRCCS sia per la riduzione della base finanziaria a livello nazionale disponibile per questo scopo.

Il costo dell'energia e del gas sul mercato, che aveva riportato nel 2022 picchi eccezionali di crescita a causa dell'incertezza geopolitica e della speculazione, ha subito nel corso del 2023 un ridimensionamento, grazie anche alle ingenti riserve di gas accumulate a livello nazionale, a maggiori contratti di fornitura geopoliticamente meno rischiosi (es. Algeria), alla predisposizione di impianti di rigassificazione che permettono l'utilizzo di navi da trasporto di gas liquefatto (LNG) e al clima mite autunnale. Questo ha portato il PUN medio (dati GME-Gestore Mercato Elettrico) da circa 304 EUR/MWh nel 2022 a un valore di 127 EUR/MWh, comunque ben superiori ai prezzi di copertura biennale stipulati dall'Istituto per il periodo da metà 2021 a metà 2023. Pertanto nel 2023 i costi di energia e gas per l'Istituto hanno beneficiato di un primo semestre quasi completo di bassi prezzi bloccati dal 2021 ma con una crescita significativa nella seconda metà dell'esercizio, dati gli elevati prezzi di mercato.

A fronte di questa minore turbolenza sul mercato energetico, i costi di produzione e logistica per i fornitori non sempre si sono ridotti in proporzione, lasciando quindi sostanzialmente immutati, malgrado significative negoziazioni da parte dell'Istituto, sia i loro prezzi verso l'Istituto sia alcune varianti logistiche maturate nel periodo pandemico (es. maggior centralizzazione in magazzini a livello europeo per farmaci e alcuni dispositivi) che non aiutano l'efficienza operativa.

Il trend di flusso di personale in uscita verso il settore pubblico, in particolare medici e infermieri, a

causa della significativa richiesta di personale specializzato, che viene formato presso l'Istituto con grande attenzione e qualità, si è ridotto rispetto al 2022. Questo è avvenuto soprattutto grazie sia alle politiche di "retention" attuate, con impatti organizzativi ed anche economici, sia all'elevata reputazione clinica e scientifica dell'Istituto. E' continuato il flusso anche in entrata di medici, infermieri e tecnici, soprattutto con personale molto qualificato, con esperienza e con grandi prospettive, con un aumento dello staff clinico e di Ricerca in linea con le previsioni e con le necessità operative. Questo permette di guardare con fiducia all'ulteriore incremento nella qualità delle prestazioni fornite.

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 *standard* di assistenza, al paziente previsti dalla normativa statale e regionale vigente e, dall'altro lato, a garantire l'erogazione delle prestazioni. Oltre a questo, l'eccellenza dell'Istituto è innanzitutto l'eccellenza di medici, infermieri, tecnici e ricercatori e pertanto la qualità del personale Clinico e di Ricerca è imprescindibile per poter fornire sempre un servizio di altissimo livello al paziente, autentico obiettivo dell'attività dell'Istituto.

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 2023 l'Istituto ha sottoscritto il contratto integrativo con la ATS (in base a quanto previsto dalla D.G.R. n. XI/7758 del 28 dicembre 2022) nel quale è stato assegnato all'Istituto Europeo di Oncologia un *budget* per l'anno 2023 pari ad € 52.437.649 per le attività di ricovero (€ 21.410.629 a favore dei cittadini residenti in Regione Lombardia), di cui € 1.498.744 legati al raggiungimento di obiettivi specifici per migliorare l'offerta di ricovero e cura, ed un *budget* pari ad € 37.776.772 per le attività di specialistica ambulatoriale e diagnostica strumentale (€ 18.467.999 a favore dei cittadini residenti in Regione Lombardia), di cui € 2.699.810 legati al raggiungimento di obiettivi specifici per l'attività specialistica ambulatoriale. 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 novembre 2023, inoltre, l'Istituto ha firmato una rimodulazione contrattuale per prestazioni di ricovero con la ATS (in ottemperanza alla D.G.R. n. XI/7758 del 28/12/2022), nella quale sono state rimodulate, per € 1.199.803, le quote economiche del tetto previsto per i cittadini fuori regione verso il tetto previsto

per i cittadini lombardi portando lo stesso ad € 41.078.431.

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 € 290,7 milioni, con un incremento pari ad € 26,2 milioni (9,9%) rispetto al 2022.

Il fatturato della produzione clinica si è attestato ad € 241,8 milioni (€ 216,8 milioni nel 2022), al netto di € 2,3 milioni (€ 3,3 milioni nel 2022) relativi a prestazioni per ricoveri ed ambulatoriali extra plafond non riconosciuti. Le sopravvenienze attive gestionali, inferiori rispetto allo scorso esercizio per € 1.2 milioni sono costituite da maggiori riconoscimenti di ATS Città di Milano e Regione Lombardia a valere sugli scorsi esercizi (per mobilità IRCCS 2021 e 2022 1,7 milioni, per ricorso alta complessità 1,5 milioni, per attività ambulatoriale € 1,0 milioni, drg € 0,7 milioni, funzioni ospedaliere € 0,3 milioni, "File F" € 0,5 milioni), da note credito su costi degli esercizi precedenti (€ 0,4 milioni), da maggiori ricavi derivanti da esercizi precedenti (€ 0,5 milioni), dal rilascio del fondo rischi assicurativi (€ 0,9 milioni).

L'Istituto ha stabilito di destinare, per l'esercizio 2023, il contributo 5 per mille (a valere sui fondi destinati alla "Ricerca Sanitaria") a progetti relativi all'innovazione clinica (per € 4,9 milioni), e a progetti di ricerca (nuovi bersagli molecolari per € 3,9 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 2022, 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 10,5% è dovuto principalmente all'incremento dei consumi per 13,3 milioni, al costo del personale per € 6,3 milioni al costo per servizi per 4,7 milioni e degli ammortamenti per € 1,6 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 € 1,0 milioni.

Le imposte di periodo sono negative per € 1,1 milioni e considerano gli effetti di imposte anticipate nette per € 0,4 milioni.

Gli investimenti sono stati pari ad € 33,6 milioni (di cui € 1,6 milioni a valere sulla ricerca).

La posizione finanziaria netta dell'Istituto è positiva e pari ad € 25,5 milioni (€ 43,2 milioni al 31 dicembre 2022) e considera per € 32,5 milioni il debito verso la controllata Centro Cardiologico Monzino derivante dalle operazioni di *cash pooling* con la stessa e titoli di stato a breve termine per € 29,9 milioni.

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	2023 €/000	% ricavi totali	2022 €/000	% ricavi totali	Δ €/000	Δ % sul 2022
Ricavi clinici	241.851	83,2	216.784	82,0	25.067	11,6
Contributi di ricerca	26.531	9,1	26.857	10,2	(326)	(1,2)
Altri ricavi	22.272	7,7	20.840	7,9	1.432	6,9
Totale ricavi	290.654	100,0	264.481	100,0	26.173	9,9
Materiali	76.258	26,2	62.923	23,8	13.335	21,2
Prestazioni di servizi e oneri di gestione	81.776	28,1	77.089	29,1	4.687	6,1
Iva indetraibile	13.792	4,7	12.392	4,7	1.400	11,3
Costo del lavoro	102.055	35,1	95.782	36,2	6.273	6,5
MOL (EBITDA)	16.773	5,8	16.295	6,2	478	2,9
Ammortamenti	13.567	4,7	11.974	4,5	1.593	13,3
Risultato operativo (EBIT)	3.206	1,1	4.321	1,6	(1.115)	(25,8)
Proventi (oneri) finanziari netti	172	0,1	(97)	(0,0)	269	(277,3)
Ripristino valore della controllata	1.043	0,4	1.010	0,4	33	3,3
Effetti sulle altre partecipazioni	333	0,1	(6)	(0,0)	339	(5.650,0)
Risultato ante imposte	4.754	1,6	5.228	2,0	(474)	(9,1)
Imposte	(1.069)	(0,4)	(1.636)	(0,6)	567	(34,7)
Risultato d'esercizio	3.685	1,3	3.592	1,4	93	2,6

Stato Patrimoniale	2023	%	2022	%	Δ	Δ % sul 2022
Immobilizzazioni tecniche nette	117.191	99,1	98.755	102,0	18.436	18,7
Immobilizzazioni Immateriali	6.029	5,1	4.473	4,6	1.556	34,8
Immobilizzazioni finanziarie	69.793	59,0	59.756	61,7	10.037	16,8
Immobilizzazioni nette	193.013	163,2	162.984	168,3	30.029	18,4
Magazzino	9.670	8,2	8.579	8,9	1.091	12,7
Crediti commerciali netti	51.719	43,7	34.713	35,8	17.006	49,0
Altre attività correnti	14.485	12,2	20.871	21,6	(6.386)	(30,6)
Debiti commerciali	(69.936)	(59,1)	(60.509)	(62,5)	(9.427)	15,6
Altre passività correnti	(75.515)	(63,9)	(64.429)	(66,5)	(11.086)	17,2
Capitale circolante netto	(69.579)	(58,8)	(60.775)	(62,8)	(8.804)	14,5
Fondo T.F.R.	(5.188)	(4,4)	(5.371)	(5,5)	183	(3,4)
Capitale Investito Netto	118.248	100,0	96.838	100,0	21.408	22,1
Capitale sociale	80.579	68,1	80.579	83,2	0	0
Riserve	59.498	50,3	55.906	57,7	3.592	6,4
Risultato d'esercizio	3.685	3,1	3.592	3,7	93	2,6
Patrimonio netto	143.762	121,6	140.077	144,7	3.685	2,6
Titoli	(29.875)	(25,3)	0	0	(29.875)	0
Finanziamento intragruppo - <i>cashpooling</i>	32.532	27,5	12.501	12,9	20.031	160,2
(Disponibilità)	(28.173)	(23,8)	(55.740)	(57,6)	27.567	(49,5)
Debiti/(Disponibilità) finanziarie nette	(25.516)	(21,6)	(43.239)	(44,7)	17.723	(41,0)

Prospetto Fonti Impieghi		
	2023	2022
Debiti/(disponibilità) finanziarie iniziali	(43.239)	(33.964)
Margine operativo lordo	16.773	16.295
Investimenti netti	(42.560)	(28.744)
Variazione capitale circolante netto	8.804	23.319
Variazione netta TFR	(183)	138
Flusso di cassa operativo	(17.166)	11.008
Proventi/(Oneri) finanziari netti	512	(97)
Imposte	(1.069)	(1.636)
Flusso di cassa netto	(17.723)	9.275
Debiti/(disponibilità) finanziarie finali	(25.516)	(43.239)

INDICI ECONOMICI			
	2023	2022	
	RISULTATO NETTO D'ESERCIZIO	3.685	3.592
ROE	CAPITALE NETTO MEDIO D'ESERCIZIO	141.920	138.281
		2,6%	2,6%
	REDDITO OPERATIVO (EBIT)	3.206	4.321
ROI	CAPITALE NETTO INVESTITO MEDIO DELL'ESERCIZIO	59.124	99.680
		5,4%	4,3%
	REDDITO OPERATIVO (EBIT)	3.206	4.321
ROS	RICAVI DI VENDITA	290.654	264.481
		1,1%	1,6%

INDICI STRUTTURA		2023	2022
INDICE DI STRUTTURA SECCO	PATRIMONIO NETTO	143.762	140.077
	CAPITALE FISSO	193.013	162.984
		74,5	85,9
QUOZIENTE DI DISPONIBILITA'	CAPITALE CIRCOLANTE	101.390	107.402
	PASSIVO CORRENTE	145.541	124.938
		69,7	86,0
QUOZIENTE DI TESORERIA	LIQUIDITA' IMMEDIATE+DIFFERITE	91.720	98.823
	PASSIVO CORRENTE	145.451	124.938
		63,1	79,1
ROTAZIONE DI MAGAZZINO	GIACENZA MEDIA DI MAGAZZINO	9.125	8.780
	CONSUMI	76.258	62.923
	GIORNI	44	51
ROTAZIONE DEI CREDITI	GIACENZA MEDIA DEI CREDITI	43.216	39.548
	RICAVI DI VENDITE	241.851	216.784
	GIORNI	65	67

Si forniscono di seguito alcuni dati di attività gestionali dell'anno 2023:

	2023	2022	Variaz. %
Giornate di degenza	46.820	45.822	2,18%
Ricoveri (dimessi)	17.730	16.550	7,13%
n. interventi	14.416	13.639	5,70%
n. visite	202.747	191.463	5,89%
n. esami TC	22.781	21.814	4,43%
n. esami MRI	14.740	14.634	0,72%
n. esami PET	6.443	5.949	8,30%
n. esami mammografici	32.584	35.112	(7,20%)
Radioterapie (*)	27.890	30.760	(9,33%)

(*) 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 D ISINTESI PERSONALE DIPENDENTE						
	N° (*)	N° (*)	Anzianità Lavorativa media (anni)	Età media (anni)	Ore medie Infortunio	Ore medie Malattia
	2023	2022	2023	2023	2023	2023
Contratti a tempo indeterminato						
Personale medico						
Donne	138	129	11,09	47,56	0,41	18,80
Uomini	107	105	13,51	50,45	-	11,44
Personale non medico						
Donne	474	462	12,49	40,86	1,42	54,71
Uomini	187	188	12,94	42,81	1,69	38,91
Personale non medico (Quadri e Dirigenti)						
Donne	65	62	14,75	50,43	-	48,59
Uomini	24	20	9,31	46,71	-	28,27
Amministrativi						
Donne	264	257	15,60	46,46	3,00	75,29
Uomini	73	73	11,60	45,29	-	51,52
Personale Amministrativo (Quadri e Dirigenti)						
Donne	17	17	15,98	50,00	6,71	29,63
Uomini	14	14	14,92	53,79	-	20,43
Totale personale a tempo indeterminato	1.363	1.327				
Contratti a tempo determinato						
Personale non medico						
Donne	11	15	0,44	29,18	-	9,36
Uomini	4	6	0,58	31,25	-	46,88
Personale non medico (Quadri e Dirigenti)						
Donne	10	6	0,89	31,10	-	57,10
Uomini	0	2	-	-	-	-
Amministrativi						
Donne	9	12	0,52	31,00	-	26,50
Uomini	2	4	0,81	31,50	-	10,75
Personale Amministrativo (Quadri e Dirigenti)						
Donne	-	-	-	-	-	-
Uomini	-	-	-	-	-	-
Personale medico						
Donne	8	2	0,64	32,00	-	2,81
Uomini	3	1	0,63	32,33	-	2,58
Totale personale a tempo determinato	47	48				
TOTALE DIPENDENTI	1.410	1.375				

(*) Non è considerato il personale interinale.

Si segnala che il 96,67% del personale (96,5% nel 2022) risulta impiegato con contratto a tempo indeterminato.

Attività di ricerca e sviluppo

La ricerca condotta all'Istituto Europeo di Oncologia (IEO) integra studi clinici (in ospedale) e studi meccanicistici (al dipartimento di oncologia sperimentale), in accordo con il principio fondante dell'istituto di ottenere una più rapida applicazione in ambito clinico dei risultati della ricerca, a beneficio dei pazienti.

L'integrazione di ricerca clinica e preclinica/meccanicistica permette un approccio omnicomprensivo allo studio dei tumori: dalla comprensione dei meccanismi cellulari intrinseci, o esterni alla cellula -derivanti dall'interazione con le componenti microambientali che nel loro complesso costituiscono l'ecosistema tumorale- che, quando alterati, inducono il processo di tumorigenesi, fino agli studi volti a valutare nuove opzioni terapeutiche interferendo con questi meccanismi alterati.

A questo scopo, combinando modelli preclinici in vitro ed in vivo di ultima generazione, tecniche biomolecolari e biochimiche, analisi multi-omiche, strumenti computazionali, grazie all'interazione con la clinica, la ricerca preclinica si focalizza principalmente sullo studio dei meccanismi cellulari intrinseci di tumorigenesi -associati al metabolismo della cellula tumorale, la (in)stabilità genomica, l'epigenetica, la genetica dei tumori, le variazioni/la regolazione dell'espressione genica come meccanismi driver di tumorigenesi; l'ecosistema tumorale nella sua interezza ed il suo ruolo nello sviluppo e nella progressione dei tumori - attraverso lo studio del sistema immunitario e del microbioma -, in particolare nell'ottica di sfruttare tali scoperte in ambito terapeutico, specialmente in relazione ad approcci immunoterapici. Queste analisi rappresentano la base per l'identificazione di nuovi target terapeutici da poter valutare successivamente in ambito clinico. In parallelo, la ricerca in IEO si pone l'obiettivo di identificare nuovi biomarcatori di malattia -che consentano una diagnosi accurata e il monitoraggio della progressione della malattia in maniera non invasiva - e nuovi approcci terapeutici, tramite studi preclinici -approcci terapeutici radicati nella caratterizzazione dei meccanismi molecolari di tumorigenesi- e clinici, così come di valutare l'efficacia di approcci chirurgici sempre più sofisticati per il trattamento dei tumori. Inoltre, i ricercatori pongono particolare attenzione alla considerazione delle differenze di sesso/genere nella ricerca clinica.

I principali risultati raccolti nel corso del 2023 sono descritti in dettaglio di seguito.

Meccanismi cellulari intrinseci di tumorigenesi.

Il metabolismo della cellula tumorale nella tumorigenesi.

Nel contesto di una collaborazione internazionale, abbiamo mostrato che gli adipociti supportano la crescita del tumore ovarico inducendo delle profonde alterazioni del metabolismo del glucosio, reindirizzando il glucosio destinato ad essere utilizzato principalmente come fonte energetica verso le vie metaboliche per la formazione di molecole di tipo strutturale. L'interazione "metabolica" tra adipociti e cellule tumorali ovariche influenza l'esito clinico, promuovendo la crescita del tumore e la colonizzazione delle metastasi nell'addome. Nello specifico, gli adipociti aumentano, nelle cellule tumorali, il metabolismo del glucosio, consentendone l'utilizzo per la produzione di lipidi necessari per la crescita del tumore. Analisi metabolomiche hanno infatti rivelato un'interazione tra gli adipociti e le cellule del tumore ovarico (in coltura), evidenziando l'incremento del metabolismo del glucosio e dei lipidi indotto dagli adipociti nelle cellule tumorali, che viene sfruttato per la produzione di lipidi in primis necessari per la formazione di membrane cellulari, un processo importante per la divisione cellulare e la crescita del tumore, e che possono essere anche riutilizzati dalle cellule tumorali, specialmente nelle condizioni di scarsità di nutrienti tipiche della massa tumorale in crescita, per supportare la maggiore domanda energetica delle cellule tumorali altamente proliferanti (attraverso l'ossidazione degli acidi grassi). Dal punto di vista del meccanismo, gli adipociti riprogrammano il metabolismo delle cellule tumorali – aumentando la produzione di lipidi– attraverso l'attivazione del pathway IL-6/JAK/STAT che a sua volta determina l'aumento dell'espressione di HIF1alpha e induce la signaling intracellulare a valle, promuovendo la glicolisi e la sintesi dei lipidi. Se invece l'espressione di HIF1alpha viene ridotta, le cellule tumorali ovariche sono spinte verso la morte cellulare (tramite ferroptosi) (PMID: 37653041).

Nel contesto di una collaborazione Italiana, abbiamo mostrato che in un microambiente tumorale caratterizzato dalla scarsa concentrazione di aminoacidi, le cellule del tumore al seno che hanno una mutazione del gene p53 rispondono riprogrammando il loro metabolismo; ciò a sua volta promuove la crescita del tumore. Abbiamo mostrato che le mutazioni di p53 influenzano il metabolismo della cellula, aumentando la sintesi degli aminoacidi serina e glicina e l'uptake degli aminoacidi. Questo controllo del metabolismo cellulare da parte di p53 mutato avviene attraverso una diretta regolazione dell'espressione dei geni coinvolti in questi due processi: p53 mutato –ma non p53 normale–, lega, infatti, il DNA in prossimità di questi geni e, attraverso l'interazione con Myc, promuove l'espressione genica. In vitro, nonostante la scarsa concentrazione di aminoacidi frequente nel microambiente tumorale, le cellule tumorali con p53 mutato proliferano abbondantemente, mentre la proliferazione delle cellule normali è significativamente ridotta, suggerendo che le mutazioni di p53 consentono alle cellule di sopravvivere anche in assenza di aminoacidi. Quando trapiantate in vivo, queste cellule up-regolano pathway aminoacidici e ciò di conseguenza promuove la crescita del tumore. I pathway responsabili della sintesi e dell'uptake degli aminoacidi sono inoltre up-regolati nei campioni tumorali di pazienti caratterizzati da mutazioni di p53. Analisi metabolomiche delle cellule con p53 mutato, in coltura in condizioni di scarsità di aminoacidi, hanno confermato le alterazioni del metabolismo: mentre le cellule normali up-regolano pathway tipicamente

associati con la scarsità di aminoacidi, arrestando la proliferazione cellulare, le mutazioni di p53 consentono alle cellule di accendere o up-regolare quei pathway che permettono di sopravvivere anche in condizioni di scarsità di aminoacidi, continuando a proliferare e sostenere la crescita del tumore. Infine, sottolineando la rilevanza clinica delle loro scoperte, l'attivazione dei pathway aminoacidici, up-regolati in seguito alla mutazione di p53, correla con una scarsa prognosi dei pazienti con tumore al seno, e l'inibizione farmacologica degli enzimi che facevano parte di questi pathway danneggia la proliferazione delle cellule con p53 mutato, sia in vitro che in vivo. Con questo studio abbiamo quindi dimostrato che, in condizioni di scarsità di aminoacidi, le cellule tumorali con p53 mutato possiedono un vantaggio proliferativo rispetto alle cellule normali: mentre le cellule normali arrestano la proliferazione e muoiono, le cellule con p53 mutato sono in grado di riprogrammare il loro metabolismo e, in questo modo, sopravvivere. Avendo però bisogno di riprogrammare il metabolismo per sopravvivere, la capacità di attivare questi pathway rappresenta un potenziale punto debole delle cellule tumorali, da poter sfruttare in chiave terapeutica (PMID: 37880212).

Nell'ambito di una collaborazione, abbiamo dimostrato che le cellule del tumore al seno triplo-negativo esibiscono frequentemente oscillazioni spontanee di calcio IP₃-dipendenti, che vengono percepite dai mitocondri. Combinando approcci genetici, farmacologici e metabolomici, abbiamo associato questo pathway alla regolazione del metabolismo degli acidi grassi. Inoltre, queste signaling promuovono la migrazione delle cellule tumorali in vitro, suggerendo che potrebbero essere studiate ulteriormente per identificare potenziali target terapeutici (PMID: 36994106).

Sulla base di evidenze sperimentali che indicano un legame tra la chemioresistenza e un alterato metabolismo delle cellule tumorali, abbiamo valutato l'eventuale correlazione tra uno specifico profilo di espressione di geni metabolici (una signature metabolica), esito clinico e specifici profili radiomici (ottenuti tramite FDG-PET) in pazienti con linfoma (diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL). Analizzando, in una coorte retrospettiva di 48 pazienti, la stessa lesione, abbiamo identificato una signature di 6 geni, indipendentemente associata all'esito clinico dei pazienti, che includeva geni implicati nella regolazione del metabolismo ossidativo dei mitocondri (up-regolati), ipossia e glicolisi (down-regolati). Integrando questa signature genica con i risultati di analisi radiomiche, abbiamo identificato una signature radiometabolica (RadSig) (comprendente 4 features radiomiche) con valore prognostico (in particolare, associata con la sopravvivenza in assenza di progressione), indicando che la radiomica basata su FDG-PET può rappresentare uno strumento non invasivo per la valutazione del metabolismo tumorale e per la stratificazione prognostica in DLBCL (PMID: 36806558).

Instabilità genomica e cancro.

Abbiamo mostrato che, per gestire l'aumento di mutazioni dannose che si accumulano durante la progressione tumorale, e far fronte quindi al costante accumulo di mutazioni potenzialmente deleterie, le cellule tumorali sfruttano l'amplificazione del numero di copie di un gene così da avere a disposizione una copia non mutata del gene da poter utilizzare per gestire l'eventuale mutazione deleteria. In altre parole, le amplificazioni di un gene avvengono in maniera casuale nel genoma e quelle che amplificano geni chiave per la sopravvivenza delle cellule tumorali vengono selezionate e mantenute durante la progressione tumorale, essendo in grado di fornire una copia non mutata di un gene nel caso in cui questo venga mutato. Analizzando 8690 campioni tumorali (dal dataset TCGA), abbiamo mostrato che, in 9 dei 23 diversi tipi di tumore analizzati, le amplificazioni geniche interessano più spesso regioni altamente mutate, compensando la presenza di mutazioni deleterie, sostenendo così la sopravvivenza della cellula tumorale. L'effetto di tamponamento dovuto all'amplificazione del gene è infatti più forte nei tumori con un elevato numero di mutazioni (high mutational burden). Inoltre, gli eventi compensatori di amplificazione genica correlano sia con il tipo di mutazione che con la funzione del gene. Infatti, le amplificazioni avvengono più frequentemente quando la mutazione genica induce una perdita di funzione (ad esempio, in caso di mutazioni non sinonime –che alterano la sequenza aminoacidica della proteina codificata– piuttosto che in caso di mutazioni sinonime). Inoltre, si verificano più spesso quando il gene gioca un ruolo critico per la sopravvivenza della cellula tumorale, che non può tollerare la perdita di funzione (ovvero geni che, se non protetti, determinerebbero la morte della cellula tumorale, richiedendo quindi meccanismi compensatori di amplificazione genica per proteggerle dalle mutazioni). I geni più frequentemente protetti da questo meccanismo compensatorio di amplificazione genica sono infatti geni essenziali per il funzionamento della cellula tumorale, come geni coinvolti in processi metabolici, nella sintesi dei lipidi, nel trasporto di proteine, nell'organizzazione dei mitocondri. Le amplificazioni geniche compensatorie sono anche tessuto-specifiche, ovvero avvengono più frequentemente in alcuni tessuti che in altri, e influenzano più frequentemente regioni non coinvolte nell'aggregazione di proteine, probabilmente per evitare la potenziale aggregazione, tossica, delle regioni amplificate. In aggiunta, abbiamo mostrato che l'amplificazione genica avviene più frequentemente prima che un gene muti (altrimenti sarebbe il gene mutato ad essere amplificato), contrastando in questo modo con successo l'effetto deleterio di una successiva mutazione. Questo studio ha quindi permesso di identificare meccanismi critici dell'evoluzione del tumore, offrendo una spiegazione al modo in cui le cellule tumorali tollerano mutazioni passenger che potrebbero invece compromettere la crescita del tumore. Inoltre, l'identificazione dei geni che le cellule tumorali proteggono attraverso questo meccanismo compensatorio di amplificazione genica rivela dei punti deboli delle cellule tumorali con cui poter interferire in chiave terapeutica (PMID: 37328455).

Abbiamo mostrato che non solo l'instabilità cromosomica (CIN, che si verifica quando i cromosomi non vengono segregati correttamente durante la divisione cellulare) induce aneuploidia (una condizione in cui le cellule portano un numero alterato di cromosomi, che si osserva nella maggioranza dei tumori solidi ed ematologici), ma

l'aneuploidia può a sua volta indurre CIN, causando così dei continui cambiamenti a livello genomico, consentendo una certa plasticità del genoma che permette alle cellule tumorali di adattarsi e sopravvivere, e conferendo di conseguenza alle cellule un vantaggio proliferativo. Abbiamo inoltre identificato i meccanismi coinvolti, scoprendo nuovi punti deboli delle cellule tumorali aneuploidi con cui poter interferire. Innanzitutto, abbiamo mostrato che le cellule aneuploidi accumulano anomalie cromosomiche, dimostrando che non solo la CIN induce aneuploidia ma anche che l'aneuploidia induce CIN. Essendo nel complesso dannosa, i livelli di CIN devono essere mantenuti sotto certi livelli per consentire alle cellule di sopravvivere. Abbiamo mostrato che le cellule aneuploidi attivano specifici meccanismi per gestire e limitare la CIN e continuare a proliferare: in condizioni aneuploidi, le cellule vanno incontro a stress replicativo, che è essenzialmente un rallentamento nella sintesi del DNA. Al fine di replicare con successo il DNA in queste condizioni, le cellule iniziano a replicare il DNA a partire da regioni che non sono comunemente usate (ovvero attivano origini di replicazione dormienti). Per far ciò, le cellule aneuploidi si affidano all'attività di DDK, una proteina chiave per l'attivazione delle origini di replicazione dormienti (l'inibizione di DDK, infatti, esacerba lo stress replicativo e riduce la vitalità cellulare). In questo modo le cellule riescono a sopravvivere e proliferare, ma mostrano delle anomalie, come una fase S più lunga e instabilità genomica. Al fine di mantenere i livelli di instabilità genomica sufficientemente elevati da consentire una certa plasticità e conferire un vantaggio in termini di sopravvivenza, ma sufficientemente bassi da non ostacolare la sopravvivenza, queste cellule attivano il pathway MiDAS (sintesi di DNA in mitosi), che consente loro di finire di replicare il DNA che, a causa dello stress legato ad aneuploidia, rimaneva non replicato. Il meccanismo DDK e il pathway MiDAS cooperano per gestire lo stress associato all'aneuploidia. Inoltre, nelle cellule aneuploidi, il DNA danneggiato si distribuisce in maniera asimmetrica tra le cellule figlie al momento della divisione cellulare: le cellule con i livelli più elevati di danno al DNA proliferano meno e vanno incontro ad arresto del ciclo cellulare e senescenza. Le cellule aneuploidi che non sono in grado di portare a termine il ciclo cellulare differiscono dalle cellule aneuploidi proliferanti dal punto di vista dell'espressione genica. In particolare, le cellule aneuploidi proliferanti sovraesprimono i geni di riparo del DNA, rispetto sia alle cellule aneuploidi che hanno arrestato il ciclo cellulare che alle cellule normali. L'espressione elevata dei geni di riparo del danno al DNA conferisce quindi un vantaggio proliferativo alle cellule aneuploidi, consentendo loro di proliferare nonostante lo stress associato alla loro condizione aneuploide. È importante sottolineare che la maggiore capacità di riparare il danno al DNA è associata ad un vantaggio proliferativo non solo nelle cellule aneuploidi non trasformate ma anche nelle cellule aneuploidi tumorali. I nostri dati suggeriscono quindi che l'instabilità genomica indotta dall'aneuploidia potrebbe rappresentare un'arma a doppio taglio per le cellule tumorali. Da un lato, è cruciale per fornire plasticità genomica, dall'altro potrebbe essere estremamente deleteria per via del continuo danno al DNA e stress replicativo. Le cellule tumorali potrebbero risolvere questo problema limitando il danno al DNA -attraverso la regolazione dei geni di riparo ad un livello compatibile con la proliferazione cellulare. Allo stesso tempo, ciò

consente loro di conservare un certo grado di instabilità genomica e quindi testare continuamente diversi assetti del cariotipo (PMID: 36906648).

In collaborazione con un gruppo di ricerca alla NYU, abbiamo sviluppato KaryoCreate, uno strumento per studiare l'aneuploidia, che permette di indurre la perdita/acquisizione di specifici cromosomi e quindi di analizzarne gli effetti sulla fisiologia e sulla patologia cellulare, utilizzabile in diversi contesti, inclusa la ricerca sul cancro. KaryoCreate è basato sulla tecnologia Crispr-Cas9 che, indirizzando in maniera specifica una proteina di fusione (Cas9/mutant KNL1) ad un cromosoma preciso, è in grado di interferire con la segregazione, inducendo così la perdita o l'acquisizione di uno specifico cromosoma. Durante la divisione cellulare, alcune proteine legano il cromosoma a livello di specifiche sequenze ripetute di DNA: i centromeri. KaryoCreate contiene delle sequenze nucleotidiche disegnate per colpire in maniera specifica una data sequenza centromerica cromosoma-specifica e una proteina mutante (Cas9/mutant KNL1). Il sistema, inducibile con doxiciclina, induce quindi un errore nella segregazione di un dato cromosoma, senza influenzare gli altri. Nonostante KaryoCreate, le cellule sono ancora in grado di completare la divisione cellulare (pur mostrando caratteristiche tipiche dell'aneuploidia), ma l'impropria segregazione dei cromosomi rallenta la proliferazione cellulare. Grazie a KaryoCreate, siamo stati in grado di indurre l'alterata segregazione di diversi specifici cromosomi contemporaneamente, di interi cromosomi (45%) o di un solo braccio del cromosoma (55%), in tre linee cellulari diverse. L'efficienza dell'aneuploidia indotta da KaryoCreate è influenzata dal livello di espressione della proteina mutante e dalla continua attività di KaryoCreate (mentre colpire lo stesso centromero con diverse sequenze non ne aumenta l'efficienza). Abbiamo confermato l'efficienza del sistema in 16 diversi cromosomi. Una volta sviluppato e validato il sistema, abbiamo testato l'effetto della perdita/acquisizione cromosomica tipica del tumore del colon, come la perdita del braccio lungo del cromosoma 18 o l'acquisizione del cromosoma 7. Indurre questo tipo di aneuploidia altera la signaling del TGFbeta, l'omeostasi del colesterolo, la miogenesi, il metabolismo della bile. È importante sottolineare che i nostri risultati indicano che il vantaggio delle cellule aneuploidi rispetto alle altre cellule è molto probabilmente il risultato dell'effetto combinato di diversi geni sullo stesso cromosoma perso o acquisito piuttosto che la conseguenza di un singolo gene driver perso/acquisito (PMID: 37075754).

Nel contesto di una collaborazione, abbiamo dimostrato che l'inattivazione di Profilin-1 –una proteina che lega l'actina, nota svolgere un ruolo di oncosoppressore in alcuni tumori– determina diversi difetti mitotici, che si manifestano prevalentemente attraverso ponti in anafase, fusi multipolari, cromosomi mal-allineati e problemi nella citochinesi. Infatti, in seguito al KO di Profilin-1, si osservano delle alterazioni nel numero di copie di un gene, associate con complessi riarrangiamenti del genoma e eventi di cromotrips. Dal punto di vista del meccanismo, Profilin-1 viene reclutata a livello del fuso durante l'anafase e la sua assenza riduce il numero di filamenti di actina durante la citochinesi. I nostri risultati indicano quindi un ruolo di Profilin-1 nel regolare la

divisione cellulare e la sua inattivazione induce difetti mitotici, uno dei principali meccanismi attraverso cui le cellule tumorali acquisiscono instabilità cromosomica (PMID: 36599901).

Epigenetica dei tumori.

Grazie ad una collaborazione tra ricercatori IEO, dell'università di Padova e di Urbino, abbiamo mostrato in una linea cellulare di un sottotipo di AML (nello specifico, nella leucemia promielocitica acuta, APL) che la molecola Maltonis –derivato sintetico del maltolo, un composto naturale utilizzato in cibi e bevande, con proprietà antiossidanti e che studi in vitro hanno mostrato avere la capacità di uccidere le cellule tumorali– è in grado di alterare il profilo epigenomico delle cellule, con conseguente modificazione dell'espressione genica –in particolare la down-regolazione del pathway di Myc e l'up-regolazione di una risposta antivirale– e ridotta sopravvivenza delle cellule. Il trattamento con Maltonis influenza infatti profondamente il profilo epigenomico delle cellule leucemiche, alterando specifici marcatori epigenetici (come H3K9me3, H3K27me1, H3K27ac, H3K14ac, H3K36me2, metilazione di H3K79 e acetilazione della coda dell'istone H4). Queste modificazioni epigenomiche alterano a loro volta l'espressione genica, accendendo o spegnendo diversi geni. Tra i geni attivati dal trattamento con Maltonis ci sono geni della risposta ad interferone alfa e gamma; tra i geni spenti ci sono invece diversi target della proteina Myc. Myc è spesso alterata nei tumori, sovraespressa sia nelle neoplasie solide che in quelle ematologiche e, per via del suo ruolo critico nella fisiologia cellulare, diversi studi stanno valutando il potenziale di Myc come nuovo target terapeutico antitumorale. La ridotta attivazione del pathway di Myc indotta dal trattamento con Maltonis è stata osservata in diverse linee cellulari leucemiche (HL60, K562, Jurkat, and U937), suggerendo un suo possibile utilizzo anche in altri tipi di tumore oltre alla APL. Inoltre, le alterazioni epigenomiche indotte da Maltonis, alterando l'espressione genica, sono in grado di arrestare la proliferazione delle cellule tumorali. Studi precedenti hanno mostrato la capacità di Maltonis di interferire con la biologia cellulare. Questo studio, dimostrando gli effetti di Maltonis sul profilo epigenetico delle cellule leucemiche e sull'espressione genica, suggerisce il potenziale di questa molecola nel contrastare la progressione tumorale (PMID: 36536122).

Nell'ambito di una collaborazione con ricercatori dell'università di Firenze, Bergamo e Udine, abbiamo sfruttato un nuovo approccio di sequenziamento –basato su tecnologia nanopore– e un nuovo strumento computazionale – PoreMeth– per analizzare simultaneamente e ad elevata risoluzione il profilo genomico ed epigenomico di campioni leucemici umani alla diagnosi e alla recidiva (dopo terapia standard), mostrando che la resistenza alla terapia delle cellule tumorali è sostenuta da alterazioni epigenetiche. In particolare, una metilazione anomala del DNA altera il profilo di espressione genica delle cellule leucemiche conferendo la chemioresistenza. Combinando un approccio innovativo per il sequenziamento del DNA e un nuovo strumento computazionale sviluppato ad hoc, che identifica le regioni del DNA diversamente iper- o ipometilate, gli autori hanno evidenziato anomalie nei profili di metilazione associati alla chemioresistenza delle cellule leucemiche. I nostri dati suggeriscono che questi

profili di chemioresistenza siano probabilmente la conseguenza di un processo in due fasi: una prima fase in cui si verificano, in maniera casuale, delle anomalie nella metilazione del DNA, seguita da una seconda fase in cui la chemioterapia esercita una “pressione” che seleziona i tratti –ovvero le specifiche anomalie nella metilazione– che conferiscono la chemioresistenza alle cellule leucemiche. Dato che i profili di metilazione sono modificabili, questo studio suggerisce il potenziale di un approccio in cui, interferendo farmacologicamente con la metilazione del DNA delle cellule tumorali, sia possibile prevenire l'acquisizione della chemioresistenza (PMID: 37031307).

Nell'ambito di una collaborazione, abbiamo definito il ruolo di LSD1 nelle cellule staminali tumorali del tumore del colon-retto, identificando il suo ruolo come potenziale marcatore prognostico e target terapeutico. Dato che le cellule tumorali generalmente sono caratterizzate da alterazioni a livello epigenetico, una potenziale terapia potrebbe colpire i tratti epigenetici tipici delle cellule tumorali. LSD1 è un fattore epigenetico sovraespresso in diversi tipi di tumore, è associato ad una cattiva prognosi e la sua inibizione riduce in maniera efficiente la progressione del tumore, sia in vitro che in vivo. In particolare, LSD1 gioca un ruolo nel mantenere le caratteristiche staminali delle cellule staminali tumorali del colon (CSCs). Analizzando 41 campioni tumorali di pazienti con tumore del colon-retto, abbiamo osservato che sebbene l'espressione di LSD1 non appaia associata allo stadio del tumore, il livello di espressione (elevato) di LSD1 è un fattore prognostico in grado di predire, indipendentemente da altri fattori, una minore sopravvivenza. Dal punto di vista del meccanismo, il silenziamento di LSD1 riduce la vitalità cellulare, aumenta la morte cellulare (apoptosi), arresta il ciclo cellulare (in G2/M) e compromette la risposta al danno al DNA (nello specifico, in seguito al danno al DNA, l'assenza di LSD1 previene l'assemblaggio dell'intero macchinario di risposta al danno, compromettendo così il riparo del DNA e la progressione del ciclo cellulare). Il silenziamento di LSD1 altera inoltre in maniera significativa le caratteristiche staminali delle CSC. Considerando il ruolo delle CSC nella formazione delle metastasi e il legame tra LSD1 e la staminalità delle CSC, abbiamo approfondito il ruolo di LSD1 nella disseminazione metastatica. Primo, nella nostra coorte di pazienti, abbiamo evidenziato un'associazione tra l'espressione di LSD1 nei tumori primari e la malattia metastatica. Secondo, il silenziamento di LSD1 limita la migrazione cellulare. In particolare, in vitro, l'inibizione farmacologica di LSD1 riduce significativamente la migrazione cellulare a dosi clinicamente rilevanti, indicando un ruolo chiave di LSD1 nel promuovere il potenziale metastatico del tumore del colon-retto. Analisi molecolari (trascrittomiche e proteomiche) delle cellule silenziate per LSD1 hanno rivelato un ruolo cruciale di LSD1 nel metabolismo del RNA, nella traduzione delle proteine, nel metabolismo cellulare, nell'organizzazione del citoscheletro e nella risposta al danno al DNA (PMID: 37385999).

Abbiamo mostrato che una specifica modificazione epigenetica –ovvero l'acetilazione della proteina istonica 4 associata al DNA (H4K16ac)– attiva un tipo di elementi trasponibili (TE), causando l'espressione anomala di sequenze ripetute di DNA. I TE sono brevi sequenze di DNA che quando spostandosi ed inserendosi in altri punti del DNA possono influenzare l'espressione genica e risultare patogeni, ad esempio inducendo tumorigenesi. La

trascrizione di queste sequenze è regolata da meccanismi epigenetici; ad esempio, l'aggiunta di gruppi metili ne induce il silenziamento. Nei tumori, l'espressione dei TE è alterata; di solito temporaneamente aumentata. Oltre a minacciare il mantenimento dell'integrità del genoma, questi TE modulano l'espressione di geni vicini; infatti, la delezione di questi TE epigeneticamente modificati –o semplicemente la rimozione della modificazione epigenetica– altera l'espressione di specifici geni. Dato che almeno alcuni dei TE caratterizzati da livelli elevati di acetilazione dell'istone 4 (H4K16ac) –che sono generalmente upregolati nei tumori– funzionano come enhancer, influenzando la struttura tridimensionale della cromatina e l'espressione di geni vicini, questi TE potrebbero rappresentare un meccanismo di regolazione genica tumore-specifico con cui poter interferire, attraverso il complesso proteico responsabile dell'acetilazione dei TE (PMID: 37308596).

Abbiamo caratterizzato una nuova isoforma, cataliticamente inattiva, di KDM5B (in particolare, l'isoforma NTT, priva del dominio N terminale) un membro della famiglia delle metiltransferasi KDM5, la cui deregolata espressione è stata descritta in molti tipi di tumore, contribuendo all'insorgenza e alla progressione del tumore. A partire dal gene KDM5B, vengono generate (per splicing alternativo) diverse isoforme di KDM5B. La sovraespressione di questa isoforma di KDM5B influenza il profilo di espressione genica delle cellule del tumore al seno. Abbiamo valutato l'espressione dell'isoforma NTT in diverse linee cellulari di tumore al seno, che corrispondevano ai diversi sottotipi, ovvero luminale, HER2+, triplo negativo A e B. L'isoforma NTT è più espressa dell'isoforma canonica ("PLU1") nel sottotipo basale (ovvero nelle cellule MDA-MB-231) e meno espressa nel sottotipo luminale (MCF7). A questo proposito è interessante sottolineare che KDM5B gioca ruoli diversi nelle due diverse linee cellulari, ovvero inibendo la crescita e le metastasi nelle cellule MDA-MB-231 e promuovendo la proliferazione delle MCF7. Le differenze nei livelli di espressione delle isoforme PLU1 e NTT sono dovute ad una differente stabilità della proteina: l'isoforma NTT è più stabile dell'isoforma PLU1 (che mostra, invece, un turnover –associato alla degradazione mediata dal proteasoma– più rapido). Così come l'isoforma canonica PLU1, anche l'isoforma NTT cataliticamente inattiva è localizzata nel nucleo. La sovraespressione dell'isoforma NTT determina un aumento dei livelli di metilazione della lisina 4 dell'istone H3 (H3K4), un noto marker di attivazione trascrizionale che, di conseguenza, altera l'espressione genica. Abbiamo quindi caratterizzato una nuova isoforma cataliticamente inattiva di KDM5B, che è espressa nelle cellule del tumore al seno e regola l'espressione genica. Studi precedenti propongono che la relativa abbondanza di due isoforme, quella canonica ed una più lunga (generata attraverso splicing alternativo, e che include l'esone 6), piuttosto che il livello totale di espressione di KDM5B contribuisca alla progressione del melanoma. In particolare, l'isoforma più lunga è maggiormente presente nel melanoma rispetto ai nevi ed era associata ad una peggiore prognosi dei pazienti. Sebbene il meccanismo alla base della espressione di questa isoforma cataliticamente inattiva KDM5B in cellule di tumore al seno e della sua diversa stabilità rispetto alla isoforma completa non siano ancora stati definiti, il suo potenziale ruolo nella tumorigenesi merita ulteriori studi (PMID: 36697763).

La genetica dei tumori.

Per ovviare alle limitazioni degli attuali strumenti computazionali nell'analisi dei dati di sequenziamento di lunghe regioni del DNA, abbiamo sviluppato GASOLINE, uno strumento computazionale per l'identificazione più accurata, ad elevata risoluzione, di varianti strutturali (SVs) dai dati di sequenziamento long-read. In particolare, GASOLINE è il primo strumento in grado di rilevare sia SVs somatiche (cioè anomalie acquisite dalle cellule tumorali, potenzialmente coinvolte nell'induzione del cancro) che germinali (cioè ereditarie e potenzialmente associate al rischio di insorgenza del tumore) tramite il confronto con campioni normali. In breve, GASOLINE funziona rilevando le SVs sulla base di un parametro che abbiamo sviluppato, l'"NRO" (normalized reciprocal overlap). L'"NRO" consente di identificare le SVs somatiche e germinali con elevata accuratezza e sensibilità, meglio degli altri strumenti esistenti, rappresentando così uno strumento utile per l'identificazione di alterazioni somatiche nel cancro (PMID: 38012350).

Abbiamo sviluppato e reso disponibile per la comunità scientifica, attraverso una interfaccia web user-friendly, uno strumento bioinformatico che consente l'identificazione accurata di varianti difficili da rilevare (come inserzioni e delezioni in regioni altamente ripetute) per studi basati su next-generation sequencing (PMID: 38092052).

Abbiamo sfruttato un nuovo approccio di sequenziamento –basato su tecnologia nanopore– e un nuovo strumento computazionale –PoreMeth– per analizzare simultaneamente e ad elevata risoluzione il profilo genomico ed epigenomico di campioni leucemici umani alla diagnosi e alla recidiva (dopo terapia standard), mostrando che la resistenza alla terapia delle cellule tumorali è sostenuta da alterazioni epigenetiche. In particolare, una metilazione anomala del DNA altera il profilo di espressione genica delle cellule leucemiche, conferendo la chemioresistenza. In particolare, combinando un approccio innovativo per il sequenziamento del DNA e un nuovo strumento computazionale sviluppato ad hoc, che identifica le regioni del DNA diversamente iper- o ipometilate, abbiamo evidenziato anomalie nei profili di metilazione associati alla chemioresistenza delle cellule leucemiche. I nostri dati suggeriscono che questi profili di chemioresistenza siano probabilmente la conseguenza di un processo in due fasi: una prima fase in cui si verificano, in maniera casuale, delle anomalie nella metilazione del DNA, seguita da una seconda fase in cui la chemioterapia esercita una "pressione" che seleziona i tratti –ovvero le specifiche anomalie nella metilazione– che conferiscono la chemioresistenza alle cellule leucemiche. Dato che i profili di metilazione sono modificabili, il nostro studio suggerisce il potenziale di un approccio in cui, interferendo farmacologicamente con la metilazione del DNA delle cellule tumorali, sia possibile prevenire l'acquisizione della chemioresistenza (PMID: 37031307).

Alterazioni dell'espressione genica nei tumori.

Abbiamo identificato –e validato– specifiche caratteristiche delle cellule tumorali, all'interno del tumore primario, che portano alla disseminazione metastatica. Marcando le cellule tumorali e la loro progenie, abbiamo infatti osservato che solo poche cellule all'interno del tumore primario sono dotate della capacità di metastatizzare. Questa capacità delle cellule pro-metastatiche di colonizzare organi distanti e dare origine a metastasi viene acquisita durante la crescita del tumore primario, come conseguenza sia di fattori intrinseci della cellula tumorale sia di fattori esterni: sebbene dipenda dal microambiente tumorale, è infatti fortemente influenzata dalle caratteristiche intrinseche delle cellule che disseminano. Analisi ad elevata risoluzione (su singola cellula) hanno rivelato specifiche caratteristiche –ovvero, specifici geni diversamente espressi– che distinguono le cellule pro-metastatiche dalle altre cellule all'interno del tumore primario: i geni pro-metastatici. Questi geni fanno parte degli stessi processi biologici, come la risposta allo stress, il rimodellamento della matrice extracellulare e signaling infiammatorie: l'iperattivazione di questi pathway rappresenta la caratteristica distintiva delle cellule pro-metastatiche. Successivamente, abbiamo validato biologicamente i geni identificati: in vivo, il silenziamento di alcuni dei geni pro-metastatici compromette significativamente la disseminazione metastatica, dimostrando che la loro attività è di fatto cruciale perché le cellule tumorali acquisiscano le caratteristiche che consentono la metastatizzazione, dimostrandone così il potenziale come nuovi target terapeutici specifici contro le metastasi. Infatti, essendo identificate nel tumore primario, questi programmi genici potrebbero in principio essere colpiti prima che le cellule inizino a metastatizzare, suggerendo che potrebbero rappresentare un utile bersaglio per ridurre il rischio di insorgenza di metastasi in seguito a trattamenti che potrebbero, in alcuni casi, aumentare il rischio di metastasi, come la chemioterapia neoadiuvante o la resezione chirurgica del tumore primario. Infine, valutando la possibilità dei geni pro-metastatici di predire la prognosi di pazienti con tumore al seno, abbiamo identificato quattro firme molecolari (ovvero, quattro gruppi di geni) in grado di predire la sopravvivenza dei pazienti, indipendentemente da altri noti fattori di rischio (come età, stadio del tumore, e sottotipo) (PMID: 37133448).

Abbiamo dimostrato che la proteina MGP promuove il manifestarsi, nelle cellule del tumore ovarico, dei tratti tipici delle cellule staminali tumorali, ovvero una rara sottopopolazione di cellule all'interno della massa tumorale, che consente al tumore di progredire, dare inizio alla disseminazione metastatica, sostenere la recidiva e, entrando in uno stato di quiescenza, resistere alla chemioterapia, rappresentando quindi l'obiettivo terapeutico ideale per eradicare completamente il tumore. Abbiamo mostrato che i livelli di espressione di questa proteina correlano con l'aggressività del tumore, proponendo MGP come un nuovo target terapeutico contro il tumore ovarico. Innanzi tutto, abbiamo osservato, in colture tridimensionali di cellule tumorali isolate dalle pazienti -gli sferoidi, che sono notoriamente ricchi di cellule staminali tumorali- e in campioni tumorali umani, una maggiore espressione di MGP, che correla con l'espressione di geni classicamente associati con le cellule staminali (tra cui i geni della transizione epitelio-mesenchimale, un processo critico associato alle cellule staminali tumorali).

Inoltre, l'espressione esogena di MGP in linee cellulari di tumore ovarico supporta la crescita del tumore (ovvero promuove la capacità delle cellule di formare sferoidi) e induce l'espressione di geni di staminalità. Al contrario, la delezione di MGP compromette significativamente la capacità delle cellule di formare sferoidi e down-regola i geni di staminalità, indicando che MGP è coinvolto attivamente, e in maniera critica, nell'indurre la staminalità delle cellule tumorali. L'espressione di MGP nelle cellule tumorali è modulata dal microambiente tumorale, che quindi gioca un ruolo chiave nel regolare la staminalità delle cellule tumorali. L'espressione elevata di MGP promuove inoltre processi critici nella disseminazione del tumore ovarico, come l'adesione al mesotelio. Esperimenti in vivo hanno mostrato che MGP è fondamentale sia per dare inizio al tumore -una caratteristica distintiva delle cellule staminali tumorali- che per supportarne la crescita. Infatti, da un lato, la delezione di MGP compromette fortemente la formazione del tumore, mentre l'espressione esogena aumenta la frequenza delle cellule staminali inizianti il tumore. Dall'altro, l'espressione di MGP aumenta la frequenza delle cellule tumorali proliferanti e sostiene la crescita del tumore. Analisi molecolari hanno identificato diversi geni -e pathway associati- i cui livelli di espressione cambiano a seconda dell'espressione di MGP: ovvero, i geni up-regolati in seguito alla delezione di MGP sono down-regolati in seguito alla sovraespressione di MGP, e viceversa. Molti dei pathway up-regolati con l'espressione di MGP sono noti per essere implicati nella staminalità delle cellule del tumore ovarico (come la pathway di hedgehog ed il fattore di trascrizione GLI1). Così come nei modelli preclinici, anche nel tumore ovarico umano MGP è coinvolto nell'aggressività del tumore: innanzi tutto, mentre MGP è poco o non espresso nei tessuti sani, la sua espressione è più elevata -sebbene variabile- nei tumori delle pazienti. Inoltre, l'elevata espressione di MGP correla con una minore sopravvivenza dei pazienti, suggerendo il suo potenziale come fattore prognostico. Infine, l'espressione di MGP aumenta in seguito al trattamento chemioterapico, suggerendo un ruolo chiave di questa proteina nel conferire un fenotipo altamente maligno. I nostri studi identificano quindi MGP come uno degli attori principali nella progressione del tumore, la cui espressione -modulata dal microambiente tumorale- induce la staminalità delle cellule tumorali, controllando così l'aggressività del tumore ovarico, ovvero, la crescita del tumore, la disseminazione metastatica, la resistenza alla terapia e la recidiva, e proponendo quindi MGP come un nuovo potenziale target per sconfiggere la malattia (PMID: 36977707).

In collaborazione con il dipartimento di Artificial Intelligence in Biomedical Engineering, abbiamo perfezionato uno strumento computazionale -Robust-web- che permette di studiare i meccanismi molecolari alla base di una malattia sulla base di informazioni riguardanti le interazioni proteina-proteina. In particolare, partendo da una lista di geni/proteine di interesse, noti per essere associati ad una determinata malattia, questo strumento identifica dei sotto-network di proteine che interagiscono in maniera stretta, verosimilmente responsabili della patogenesi di una malattia. Interrogando l'algoritmo con una determinata lista di geni associati ad una malattia, Robust-web troverà in che modo questi -e possibilmente altri- geni/proteine interagiscono all'interno di un

network, in una specifica malattia. Sfruttando database disponibili, è possibile eventualmente ottenere e visualizzare diverse informazioni aggiuntive attraverso Robust-web, come farmaci potenzialmente in grado di interagire con le proteine identificate come parte del network e il loro eventuale riposizionamento nel contesto di una diversa patologia; informazioni disponibili riguardo alle malattie note per essere associate ai geni di interesse; i livelli di espressione genica in un tessuto. Rispetto alla versione precedente, Robust-web rimuove eventuali errori potenzialmente associati al fatto che i network di interazione proteina-proteina tendono ad essere fortemente influenzati dal fatto che alcune proteine semplicemente sono state testate più frequentemente per ciò che riguarda l'interazione con le diverse proteine partner. Ciò diventa un problema quando si costruiscono dei network intorno a quelle proteine, dato che le proprietà del network potrebbero semplicemente riflettere la maggiore attenzione che alcune proteine hanno ricevuto nel processo di generazione del network stesso; per questo, devono essere maneggiati con cura. Robust-web elimina il problema affrontando e rimuovendo questo tipo di errore (PMID: 37233198).

Abbiamo mostrato che l'autofagia, le proteine Myc e CIP2A sono implicati nella biologia dei tumori testa-collo indotti dall'infezione da papilloma virus umano (HPV) e nella sensibilità alla chemioterapia: le proteine di HPV modulano la fisiologia delle cellule del tumore testa-collo, regolando (nello specifico, aumentando) l'espressione di CIP2A che a sua volta aumenta (attraverso la fosforilazione) la stabilità, e quindi i livelli cellulari, di Myc. La maggiore presenza di Myc determina una maggiore repressione del pathway autofagico da parte di Myc, aumentando di conseguenza la sensibilità delle cellule tumorali alla chemioterapia. Questi risultati potrebbero portare alla definizione di nuovi approcci terapeutici per il trattamento dei pazienti con tumore testa-collo indotti da infezione da HPV, modulando l'autofagia. L'autofagia è un processo cellulare attraverso cui la cellula degrada e ricicla le componenti cellulari danneggiate. Noi abbiamo osservato un'inibizione dell'autofagia nelle cellule del tumore testa-collo positive al virus HPV. Dal punto di vista del meccanismo, le proteine E6 e E7 di HPV modulano –nello specifico, aumentano– l'espressione della proteina CIP2A. L'aumentata espressione di CIP2A a sua volta determina una maggiore fosforilazione di Myc che aumenta la stabilità della proteina. Nelle cellule HPV-positive, infatti, il legame di Myc ai geni dell'autofagia è aumentato rispetto alle cellule HPV-negative. Studi precedenti hanno dimostrato che Myc agisce come repressore dell'autofagia e infatti nelle cellule del tumore testa-collo HPV-positive, in cui Myc è più stabile e quindi più abbondante, l'autofagia è ridotta. Al contrario, in queste cellule, il legame delle proteine TFEB e TFE3 –noti promotori dell'autofagia– è ridotto. Inoltre, essendo responsabile della stabilizzazione di Myc, l'espressione di CIP2A è inversamente correlata con l'autofagia: mentre nelle cellule tumorali HPV-positive l'autofagia è ridotta, il silenziamento di CIP2A ripristina il funzionamento del pathway autofagico. L'espressione di CIP2A è inoltre più elevata nei campioni di tumore testa-collo dei pazienti HPV-positivi rispetto ai campioni HPV-negativi. L'autofagia è inoltre un meccanismo fondamentale nella resistenza alla chemioterapia; l'inibizione dell'autofagia aumenta infatti la sensibilità delle cellule al trattamento. Abbiamo

mostrato che nelle cellule del tumore testa-collo HPV-positive, ridurre l'espressione di Myc o CIP2A (che quando invece sono presenti inibiscono l'autofagia), promuovendo l'autofagia, aumenta la resistenza delle cellule HPV-positive alla terapia (con cisplatino). L'effetto è specifico per le cellule HPV-positive, dato che dipende dalla regolazione dell'autofagia da parte delle proteine di HPV (PMID: 37925449).

Al fine di valutare l'evoluzione delle caratteristiche biologiche del tumore al seno lobulare invasivo (ILC), abbiamo effettuato, nell'ambito di uno studio retrospettivo, un confronto tra tumore primario e metastasi utilizzando campioni di tumore al seno derivanti da pazienti recidivanti trattate nel nostro istituto tra il 2013 e il 2020. In particolare, abbiamo valutato le differenze nei livelli di espressione del recettore degli estrogeni (ER), del recettore del progesterone (PgR) e HER2, così da testarne le implicazioni prognostiche e terapeutiche. I nostri risultati indicano che con la progressione metastatica si verifici una variazione del fenotipo che potrebbe essere associata all'esito clinico dei pazienti, suggerendo che la biopsia tumorale in questi pazienti potrebbe guidare il processo decisionale dei clinici, in termini di approccio terapeutico, con implicazioni prognostiche (PMID: 36989828).

Nel contesto di una collaborazione, sfruttando topi doppi e tripli KO di Flcn/Tfeb/Tfe3, abbiamo mostrato che i fattori di trascrizione Tfeb and Tfe3 contribuiscono entrambi, in maniera diversa ma cooperativa, alla formazione di cisti renali nella sindrome Birt-Hogg-Dubé (BHD), una sindrome tumorale ereditaria caratterizzata dallo sviluppo di lesioni cutanee, cisti polmonari, tumori e cisti renali, causata dalla perdita di funzione del gene FLCN, il quale agisce come regolatore negativo dei fattori di trascrizione TFEB e TFE3, regolatori di autofagia e biogenesi. L'analisi di sezioni tumorali derivanti da pazienti BHD ha rivelato l'aumentata attivazione del programma trascrizionale mediato da TFEB/TFE3 e ha mostrato che il silenziamento di uno dei due geni inverte la tumorigenesi. Il nostro studio quindi dimostra che sia TFEB che TFE3 sono inducono la tumorigenesi renale e suggeriscono nuove strategie terapeutiche basate sull'inibizione di questi fattori di trascrizione (PMID: 36987696).

Nell'ambito di una collaborazione, abbiamo dimostrato che nelle cellule del tumore al seno, la sovraespressione di RAGE induce l'attivazione della signaling di EphA3, aumentando di conseguenza la capacità migratoria delle cellule tumorali. Inoltre, l'iperattivazione RAGE-dipendente della signaling EphA3/EphrinB2 è coinvolta nell'interazione tra cellule tumorali con le cellule del microambiente tumorale -i fibroblasti associati al tumore-, sostenendo ulteriormente la disseminazione delle cellule tumorali (PMID: 37434266).

L'ecosistema tumorale.

Il sistema immunitario nel processo di tumorigenesi e approcci di immunoterapia.

Abbiamo mostrato che la stimolazione delle cellule NK con la molecola IL15 è in grado di ripristinare la loro funzionalità metabolica e la loro attività antitumorale. Sfruttando cellule NK isolate da effusioni pleuriche maligne (che rappresentano un modello eccellente e facilmente accessibile di microambiente tumorale) di pazienti con tumore al polmone, abbiamo osservato che il microambiente tumorale riduce l'attività dei mitocondri delle cellule NK -il cui funzionamento è critico per la sopravvivenza delle cellule in un microambiente ostile e per la loro attività anti tumorale: le cellule NK esposte al microambiente tumorale entrano in uno stato caratterizzato da una ridotta funzionalità. La stimolazione delle cellule NK con IL15 altera profondamente il metabolismo cellulare, aumentando la funzionalità mitocondriale e la loro attività antitumorale. E' importante sottolineare che ciò è vero sia per le cellule non funzionali in seguito all'esposizione alle condizioni stressanti del microambiente tumorale, sia nelle cellule NK pienamente funzionali: IL15 è in grado di "recuperare" le cellule NK metabolicamente disfunzionali (riportandole ai livelli delle cellule di controllo), ripristinando così la loro capacità di uccidere le cellule tumorali. Inoltre, i pazienti che hanno livelli più elevati di IL15 intratumorale hanno una maggiore sopravvivenza. I nostri studi identificano quindi IL15 come un fattore chiave nel controllare l'attività anti-tumorale delle cellule NK, suggerendo che, agendo sul metabolismo cellulare, potrebbe rappresentare un efficace strumento terapeutico per potenziare l'immunoterapia basata su cellule NK, sottolineando la rilevanza clinica di queste scoperte (PMID: 36468179).

Abbiamo mostrato che l'acido linoleico (LA) -un acido grasso a catena lunga- potenzia l'attività antitumorale dei linfociti T, agendo sui mitocondri e alterando profondamente il metabolismo, suggerendo il potenziale utilizzo di LA in ambito clinico, per aumentare l'efficacia dell'immunoterapia. La stimolazione dei linfociti T CD8 con LA aumenta infatti il funzionamento dei mitocondri e influenza l'espressione di diversi geni, tra cui i geni mitocondriali, i geni associati al reticolo endoplasmatico (ER), quelli coinvolti nel metabolismo dei lipidi e nella signaling del TCR receptor. In seguito alla stimolazione con LA, mitocondri e ER agiscono in maniera coordinata: LA aumenta l'interazione tra ER e mitocondri, regolando il passaggio di calcio tra ER e mitocondri (e la signaling a valle, evento cruciale per l'attivazione dei linfociti T) e la funzionalità mitocondriale. L'aumentata interazione ER/mitocondri è un tratto tipico dei linfociti T della memoria e infatti la stimolazione con LA induce il differenziamento dei linfociti T principalmente in linfociti T della memoria, con un'aumentata sopravvivenza nel microambiente tumorale. A livello metabolico, il trattamento con LA promuove la sintesi degli acidi grassi. LA è captato dai linfociti T e metabolizzato (incorporato negli acidi grassi a catena lunga), altera la composizione e la fluidità delle membrane cellulari, influenzando così il funzionamento dei linfociti T. Inoltre, in seguito al trattamento con LA, i livelli della proteina PD1 -la cui espressione consente alle cellule tumorali di sfuggire alla sorveglianza immunitaria- si riducono notevolmente, suggerendo che LA sia in grado di mitigare la progressiva riduzione dell'attività dei linfociti T. Queste cellule eliminano infatti in maniera più efficiente le cellule tumorali. Anche in vivo, la stimolazione con LA migliora la funzionalità mitocondriale dei linfociti T, rende le cellule più

resistenti alla progressiva perdita di funzionalità e più efficienti nel controllare la crescita del tumore. La stimolazione con LA ha gli stessi effetti anche nei linfociti T umani in coltura. Inoltre, le cellule CART, dirette verso il linfoma o il neuroblastoma, stimulate con LA hanno una maggiore efficacia antitumorale sia in vitro che in vivo, aumentando significativamente la sopravvivenza degli animali. I nostri studi dimostrano quindi il potenziale di LA nel superare i problemi associati ad un microambiente tumorale (TME) che tende a reprimere il funzionamento dei linfociti T, rendendo così i linfociti T CD8 più forti contro le cellule tumorali. Diversamente da altri acidi grassi presenti nel TME, che danneggiano l'attività antitumorale dei linfociti T, LA ne potenzia l'attività, alterando in maniera duratura il metabolismo dei linfociti T CD8. I nostri studi infatti mostrano l'aumentata efficacia delle CART stimulate da LA in tre diversi modelli tumorali preclinici. LA potrebbe quindi essere sfruttato per potenziare gli effetti dell'immunoterapia basata sui linfociti T nei tumori solidi. Abbiamo già depositato il brevetto e stiamo attivamente cercando partnership e collaborazioni per portare il metodo in clinica con l'intento di aumentare l'efficacia della terapia cellulare T per la cura dei tumori solidi (PMID: 36898381).

Nell'ambito di una collaborazione, abbiamo sfruttato un approccio multi-omico per valutare la fattibilità dell'ingegnerizzazione ex vivo di cellule umane (linfociti T e cellule staminali ematopoietiche/progenitori isolati dal sangue periferico) usando nanoparticelle lipidiche (LNP). Abbiamo mostrato che, avendo una ridotta tossicità, questo approccio risulta più efficiente dell'elettroporazione comunemente impiegata. Abbiamo osservato che l'elettroporazione stessa, indipendentemente dal costrutto introdotto, altera significativamente l'espressione genica –come evidenziato da analisi trascrittomiche e proteomiche–, inducendo l'upregolazione (apoptosi e infiammazione) e downregolazione (ciclo cellulare, metabolismo) di diversi pathway. Ottimizzando il protocollo per l'utilizzo delle LNP, abbiamo ottenuto un'efficienza paragonabile in termini di trasferimento del costrutto rispetto alle cellule elettroporate, ma una tossicità fortemente ridotta: la maggior parte delle cellule sopravvive e recupera rapidamente dallo stress del trattamento, ricominciando a proliferare. Sebbene l'efficienza dei due metodi sia paragonabile, dato che la tossicità associata con l'utilizzo delle LNP è minore, il numero di cellule ingegnerizzate che riescono a sopravvivere alla fine è più alto in quelle trattate con LNP. A livello trascrizionale abbiamo osservato l'up-regolazione dei pathway di apoptosi, di p53 e di infiammazione e la down-regolazione del ciclo cellulare in seguito all'ingegnerizzazione mediata da LNP. I pathway di apoptosi sono però meno attivi rispetto alle cellule elettroporate –in linea con la minore percentuale di cellule morte– e l'omeostasi del colesterolo è alterata –probabilmente a causa del sovraccarico di lipidi dovuto alle LNPs. Inoltre, le cellule elettroporate e quelle trattate con LNP mostrano un'efficienza paragonabile in termini di capacità di trapiantare in animali immunodeficienti, dimostrando che il trattamento con LNP non ne altera la funzionalità. Grazie a questo studio abbiamo quindi ottimizzato un approccio per l'ingegnerizzazione ex vivo di cellule ematopoietiche umane (linfociti T e cellule staminali ematopoietiche/progenitori derivanti dal sangue periferico) basata sull'utilizzo di LNP, con una tossicità significativamente più bassa rispetto alla tecnica di elettroporazione comunemente

utilizzata e quindi in generale una maggiore efficienza: questo approccio permette di recuperare un maggior numero di cellule ingegnerizzate vive, funzionali, proliferanti, che trapiantano in maniera efficiente in modelli preclinici, offrendo così uno strumento più efficace per l'immunoterapia (PMID: 37294917).

Combinando dati trascrittomici e proteomici, da database esistenti, di 36 diversi tessuti, abbiamo definito uno score (ovvero il rapporto proteina/RNA, PTR) che stima l'efficienza di espressione di un gene in un determinato tessuto ospite. Questo score tiene in considerazione l'effetto dell'utilizzo del codone. L'espressione ottimale di geni esogeni in (uno specifico tessuto di) un ospite deve infatti tenere in considerazione diversi fattori, tra cui "l'utilizzo del codone", ovvero quanto spesso una specifica sequenza di 3 nucleotidi –un codone– è usata per produrre un certo aminoacido. Trovare il modo di ottimizzare l'espressione di un gene è cruciale, ad esempio, nel contesto dello sviluppo di vaccini a RNA o in approcci di terapia genica. L'ottimizzazione dell'utilizzo del codone viene tipicamente effettuata in modo da rimpiazzare i codoni rari con quelli più comuni in un organismo. Tuttavia, una ricerca recente mostra che tessuti diversi hanno un diverso utilizzo del codone. Per questo, durante il design sperimentale, è possibile sfruttare degli strumenti computazionali che consentano di ottimizzare l'espressione genica in uno specifico tessuto dell'organismo ospite. L'utilizzo del codone cambia infatti in maniera dinamica e influenza l'espressione genica in diversi contesti. Ad esempio, un nostro lavoro recente, in collaborazione con Luis Serrano del CRG di Barcellona, ha dimostrato che i virus –come SARS-CoV2– adattano l'utilizzo del codone (a seconda dell'abbondanza del tRNA nel tessuto umano) per infettare in maniera selettiva alcuni tessuti e non altri. Un lavoro più recente ha mostrato che l'utilizzo del codone è influenzato dalla specifica composizione nucleotidica, con i geni ricchi di A e T espressi in maniera più coordinata rispetto a quelli ricchi di G e C, probabilmente facilitando l'espressione tessuto-specifica, tempo (e.g. ciclo cellulare)- dipendente o coordinata di diverse proteine all'interno dello stesso complesso proteico. Sfruttando questi database, in questo lavoro abbiamo definito, per ogni tessuto, i codoni giusti per ottimizzare l'espressione di ogni gene. Su queste basi, abbiamo costruito uno strumento computazionale -CUSTOM- che applica queste informazioni per "adattare" ogni sequenza di DNA al fine di ottimizzare l'espressione genica (PMID: 36829202).

Nell'ambito di una collaborazione nazionale, abbiamo identificato una funzione centrale della proteina p140Cap - proteina adattatore e oncosoppressore nel tumore al seno, associata con una prognosi favorevole) nella regolazione di eventi locali e sistemici esterni al tumore che inibiscono la capacità di specifiche sottopopolazioni di cellule immunitarie di creare un ambiente immunosoppressivo e pro-tumorale nella massa primaria, e un microambiente pro-metastatico a livello di siti distanti. Analizzando l'espressione genica, abbiamo scoperto che p140Cap controlla un asse epistatico in cui, attraverso l'inibizione a monte della beta catenina, limita la tumorigenicità e la self-renewal delle cellule staminali tumorali, riducendo il rilascio di citochine infiammatorie. Dal punto di vista del meccanismo, l'inibizione della beta catenina da parte di p140Cap dipende dalla sua abilità di stabilizzare il complesso di distruzione della beta catenina, aumentando così l'inattivazione della beta catenina

stessa. Studi clinici hanno mostrato inoltre che una bassa espressione di p140Cap correla con la ridotta presenza di linfociti infiltranti e un tumore più aggressivo in una coorte ampia di pazienti, sottolineando il potenziale di p140Cap come biomarcatore per interventi terapeutici (PMID: 37169737).

Il microbiota intestinale nella fisiologia umana e nei tumori.

Nel contesto dello studio clinico ColoViD, i cui risultati “primari” sono stati precedentemente pubblicati – suggerendo un effetto della vitamina D sulla composizione del microbiota intestinale, che a sua volta media gli effetti della somministrazione di vitamina D sui livelli della forma biologicamente attiva di vitamina D– abbiamo mostrato che, nei pazienti con tumore del colon-retto, l'aderenza alle indicazioni del World Cancer Research Fund (WCRF) –ovvero le linee guida volte a ridurre l'incidenza di tumore attraverso l'adozione di uno stile di vita salutare, redatte sulla base di forti evidenze scientifiche disponibili che associano i fattori di rischio e il cancro– è significativamente associata con un minore rischio di nuovi eventi come nuovi adenomi e/o recidive del tumore. Sulla base degli stili di vita e dei regimi alimentari dei soggetti arruolati nello studio, i pazienti sono stati suddivisi in aderenti e non alle linee guida mondiali volte a ridurre il rischio di tumore. I valori di leptina (che viene secreta dal tessuto adiposo, gioca un ruolo nell'infiammazione e nel rischio di tumore, soprattutto nei tumori associati all'obesità) e le misurazioni dell'indice di massa corporea (BMI) sono risultati significativamente più elevati negli individui che non seguivano le linee guida rispetto a coloro che le seguivano, mentre i valori di vitamina D sono risultati più elevati nei soggetti che seguivano le linee guida. Al contrario, i valori di leptina o altri marcatori circolanti, come molecole infiammatorie, non sono influenzati dalla somministrazione di vitamina D. Inoltre, abbiamo osservato una certa variabilità nei livelli circolanti di vitamina D in relazione ai polimorfismi del recettore. Indipendentemente dalla loro aderenza alle linee guida del WCRF, i pazienti arruolati nello studio ColoViD sono stati casualmente assegnati a ricevere vitamina D o al gruppo placebo. I risultati indicano un più basso numero di “eventi” come fattori di rischio tumorali e/o progressione della malattia anche nei pazienti a cui veniva somministrata vitamina D, indipendentemente dal fatto che aderissero o no alle linee guida, suggerendo una possibile interazione tra vitamina D e adesione alle linee guida WCRF. Questo studio quindi conferma il ruolo della vitamina D nella prevenzione e suggerisce fortemente che la somministrazione di vitamina D dovrebbe essere considerata al pari dell'aderenza ad uno stile di vita salutare per la prevenzione dei tumori (PMID: 36279751).

Abbiamo dimostrato che la trasmissione del microbiota da persona a persona è fortemente implicata nel definire la composizione del microbiota orale e intestinale di ogni individuo. Innanzi tutto, abbiamo rifinito uno strumento computazionale per effettuare analisi del microbioma con elevata risoluzione, ovvero in grado di distinguere i singoli ceppi di ogni specie batterica presente. Con questo strumento abbiamo analizzato i dati sul microbiota orale e intestinale di persone in diverse aree geografiche; i dati comprendevano anche informazioni sugli stili di

vita e le interazioni interpersonali. Sfruttando questo approccio, abbiamo dimostrato che vivere insieme è il fattore che più fortemente definisce il microbiota intestinale. Infatti, la nostra analisi ha sottolineato che i genitori e i loro figli fino a tre anni di età hanno il microbiota più simile (ovvero hanno il più elevato numero di ceppi batterici in comune), seguito dai membri della stessa famiglia che vivono insieme, e i gemelli che non vivono insieme. Le persone che non vivono insieme hanno il microbiota intestinale più diverso e generalmente non hanno alcun ceppo batterico in comune. Sebbene la trasmissione del microbiota da madre a figlio sia nota, abbiamo mostrato che il microbiota si modifica e, con l'età, il microbiota del bambino diventa sempre meno simile a quello della madre. Tuttavia, nonostante l'età e il tempo trascorso non vivendo insieme, rimane comunque un certo livello di somiglianza. Anche la somiglianza del microbiota intestinale tra le persone che abitano insieme è nota. Abbiamo però mostrato che questa è dovuta in gran parte alla trasmissione da persona a persona, indipendentemente da altri fattori, come la dieta che influisce invece sull'abbondanza dei batteri del microbioma piuttosto che sulla loro presenza. Inoltre, le persone più giovani sono più sensibili alle modificazioni del microbiota indotte dalle interazioni con altre persone rispetto alle persone più adulte: in qualche modo le persone più adulte sono più resistenti alla "colonizzazione" da parte di nuove componenti del microbiota. Inoltre, analizzando i dati di gemelli che non vivono insieme ma che hanno vissuto insieme in passato (quindi che avevano molto probabilmente un microbiota molto simile nei primi anni di vita) abbiamo evidenziato come il loro microbiota diventi sempre più diverso con il passare degli anni non vissuti insieme. La trasmissione interpersonale avviene anche, sebbene in minor misura, tra persone che interagiscono ma non vivono insieme. Abbiamo anche analizzato la trasmissione da persona a persona del microbiota orale –che fino ad oggi era stato poco studiato– mostrando che avviene più frequentemente della trasmissione del microbiota intestinale e, rispetto al microbiota intestinale, è più fortemente modificata dalle interazioni personali. Le interazioni strette influenzano fortemente il microbiota orale. Il nostro studio quindi dimostra il ruolo della trasmissione interpersonale nel dar forma al microbiota orale e intestinale di ognuno di noi, che risulta più forte di altri fattori. La modificazione del microbiota è parzialmente reversibile nel tempo, sottolineando l'importanza di considerare questi fattori in futuri volti a modulare il microbioma. Inoltre, malattie e condizioni patologiche che sono attualmente considerate non trasmissibili dovrebbero essere rivalutate alla luce di queste scoperte (PMID: 36653448).

Nel contesto di uno studio clinico di fase I, nell'ambito di una collaborazione internazionale, abbiamo dimostrato la sicurezza ed efficacia di un approccio terapeutico che combina il trapianto di microbiota fecale (FMT) da donatori sani con terapia anti-PD1 come trattamento di prima linea per i pazienti con melanoma in stadio avanzato. Venti pazienti con melanoma inoperabile o metastatico, non precedentemente trattati, sono stati arruolati nell'ambito di questo studio clinico; sono stati trattati con immunoterapia anti-PD1 e hanno ricevuto FMT da donatori sani. I pazienti trattati con FMT non hanno manifestato alcun evento avverso di grado 3 e solo il 25% dei pazienti ha manifestato eventi avversi di grado 3 dopo l'inizio della terapia anti-PD1 (in nessun caso i pazienti

hanno manifestato eventi avversi di grado 4, e non sono stati riportati nuovi sintomi), indicando la sicurezza del trattamento combinato. Riguardo all'efficacia clinica, il 75% dei pazienti ha beneficiato del trattamento; in particolare, il 65% dei pazienti rispondeva al trattamento, e il 20% di essi mostrava una risposta completa. La variabilità in termini di efficacia -ovvero risposta completa, parziale, malattia progressiva, nessuna risposta non dipendeva dal donatore. Dopo oltre 20 mesi di follow up, 16 pazienti erano ancora vivi. Nel complesso, i risultati mostravano una migliore risposta dei pazienti a questo approccio terapeutico combinato rispetto al trattamento immunoterapico standard anti-PD1. Abbiamo quindi approfondito le radici biologiche di questi risultati clinici: innanzi tutto, le analisi dei campioni raccolti prima e dopo FMT e terapia anti-PD1 hanno mostrato una maggiore diversità nella composizione del microbiota dei donatori sani rispetto ai pazienti. Inoltre, in seguito a FMT il microbiota del donatore e del ricevente diventavano sempre più simili sia nei responder che nei non-responder, ma nel tempo questa somiglianza scompariva nei non-responder, mentre aumentava nei responder. Il microbiota intestinale dei responder era ricco di specifiche specie batteriche (come *Ruminococcus* SGB15229 e SGB1505, *Eubacterium ramulus* e *Eubacterium* sp. AM28 29 e *Faecalibacterium* SGB15346) dopo FMT, mentre i non-responder mostravano alterazioni meno pronunciate in termini di composizione del microbiota dopo FMT. L'esito clinico dei pazienti non era associato alla composizione del microbiota prima di FMT. Analisi degli effetti del FMT a livello sistemico hanno rivelato delle variazioni in termini di metaboliti nel sangue (ovvero aumento di acidi biliari e istidina; quest'ultimo è stato precedentemente associato ad un'aumentata attivazione di linfociti T CD8 ed una migliore risposta a inibitori dei checkpoint immunitari nel tumore al polmone) e un leggero aumento (sebbene non significativo, probabilmente a causa del numero limitato di pazienti analizzati) delle cellule immunitarie all'interno del tumore e di linfociti T attivati nel sangue periferico dei responder rispetto ai non-responder dopo FMT. Infine, abbiamo confermato in modelli preclinici in vivo gli stessi effetti osservati nei pazienti: un effetto benefico del FMT da donatori sani –e da responder, ma non dai non-responder– in termini di capacità di ripristinare efficacia della terapia anti-PD1 e di aumento di linfociti T intratumorali nei topi che avevano ricevuto FMT da pazienti donatori responder. I nostri risultati propongono quindi la combinazione di immunoterapia anti-PD1 con FMT da donatori sani come approccio terapeutico nuovo, sicuro e più efficace della terapia standard con ICI. La maggiore facilità di reperire donatori sani rispetto a pazienti responder rende questa terapia di combinazione uno strumento dall'enorme potenziale clinico (PMID: 37923839).

Nel contesto di una collaborazione, abbiamo esplorato l'eventuale associazione tra la dieta e la risposta al trattamento con inibitori dei checkpoint immunitari in pazienti con melanoma. L'alimentazione, infatti, attraverso la sua associazione con il sistema immunitario e il microbioma intestinale, rappresenta un target potenziale per aumentare l'efficacia e la tollerabilità del trattamento immunoterapico che, sebbene abbia migliorato la sopravvivenza dei pazienti con melanoma, induce risposte durature solo nel 40-60% dei pazienti, con una notevole variabilità in termini di risposta alla terapia, e la manifestazione di eventi avversi anche gravi. Nell'ambito

di uno studio clinico multicentrico (PRIMM) condotto in Regno Unito e Olanda, su 91 pazienti con melanoma avanzato sottoposti a terapia con inibitori dei checkpoint immunitari (anti-PD1 e anti-CTLA4), in monoterapia o in combinazione, sono stati raccolti i dati clinici e i pazienti sono stati "interrogati" sulla loro alimentazione attraverso un questionario. Il nostro studio ha rivelato un'associazione positiva tra la dieta mediterranea -un modello di alimentazione sana ampiamente raccomandato- e la risposta al trattamento con inibitori dei checkpoint immunitari. Sebbene siano necessari studi prospettici più ampi in differenti aree geografiche, questo studio suggerisce fortemente un ruolo della dieta nel contesto dell'immunoterapia con inibitori dei checkpoint immunitari (PMID: 36795408).

Abbiamo descritto il meccanismo molecolare alla base della peggiore prognosi, e del maggiore rischio di insorgenza, della leucemia promielocitica acuta (APL), in pazienti in sovrappeso/obesi. Abbiamo confermato che in modelli murini di APL, l'obesità indotta da una dieta ad alto contenuto di grassi (HFD) sostiene il processo di tumorigenesi, aumentando la penetranza e riducendo la latenza, fornendo così un modello ideale per investigare gli eventi molecolari associati alla fase pre-leucemica. Nonostante il crescente danno al DNA nelle cellule staminali ematopoietiche (HSC), la HFD aumenta solo lievemente il numero di mutazioni, e ha un impatto trascurabile su noti geni driver. HFD aumenta il pool di cellule progenitori, con parallela riduzione nelle HSC long-term. L'acido linoleico, abbondante in HFD, ricapitola pienamente l'effetto della HFD sulla self-renewal dei progenitori in APL, attraverso l'attivazione di un regolatore centrale del metabolismo degli acidi grassi. Il nostro studio fornisce quindi informazioni importanti per interventi nutrizionali/farmacologici volti a contrastare i tumori associati all'obesità e suggerisce il coinvolgimento di fattori non genetici (PMID: 37956420).

Nell'ambito di una collaborazione, abbiamo valutato l'influenza del microbiota intestinale sull'efficacia terapeutica di inibitori delle chinasi ciclina-dipendenti (CDK4/6) in pazienti con tumore al seno HR-positivi. Sebbene analisi di campioni fecali di pazienti responder e non-responder non abbiano evidenziato alcuna differenza in termini di alfa/beta diversity a livello di phylum e specie, algoritmi di machine learning hanno evidenziato 4 specie batteriche in grado di distinguere i responder (*Bifidobacterium longum*, *Ruminococcus callidus*) e i non-responder (*Clostridium innocuum*, *Schaalia odontolytica*), sottolineando il ruolo del microbiota intestinale nella sensibilità/resistenza a inibitori di CDK4/6 e terapia endocrina nel tumore al seno metastatico e suggerendo il potenziale della manipolazione del microbiota per migliorare la risposta a questi farmaci (PMID: 37454444).

Nell'ambito di una collaborazione, abbiamo dimostrato il meccanismo alla base della ridotta efficacia dell'immunoterapia con ICI in seguito alla terapia antibiotica: la somministrazione di ampicillina, colistina e streptomina altera la composizione del microbiota intestinale, aumentando, al termine del trattamento antibiotico, l'abbondanza di determinate specie batteriche (come *E. clostridioformis*). Ciò aumenta i livelli degli acidi biliari, che a loro volta inducono una riduzione dell'espressione della proteina MAdCAM1 da parte delle cellule dei vasi dell'intestino. In seguito alla ridotta espressione di MAdCAM1 si osserva una maggiore migrazione

verso il tumore dei linfociti T immunosoppressivi, che compromette l'efficacia della terapia anti-PD1 (PMID: 37289890).

Abbiamo investigato i meccanismi attraverso cui il microbiota influenza le cellule iNKT e in che modo le cellule iNKT a loro volta influenzano la progressione del tumore del colon-retto, mostrando che una specifica specie batterica del microbiota intestinale – *Fusobacterium nucleatum* – regola il fenotipo delle cellule iNKT (invariant Natural Killer T cells), cellule del sistema immunitario che risiedono nell'intestino umano, dove giocano un ruolo nell'immunosorveglianza del tumore del colon-retto. In particolare, abbiamo mostrato che l'abbondanza di *F. nucleatum* induce un fenotipo pro-tumorigenico delle iNKT, le quali a loro volta richiamano all'interno della massa tumorale neutrofilo immunosoppressivi. Ciò determina una maggiore crescita del tumore e quindi una peggiore prognosi dei pazienti.

In dettaglio, analizzando campioni umani di tumore del colon-retto, abbiamo osservato un'abbondanza di cellule iNKT nell'area tumorale rispetto alle aree non tumorali adiacenti. Inoltre, le cellule iNKT all'interno del tumore erano fenotipicamente diverse -ovvero erano pro-tumorigeniche- rispetto a quelle in aree non tumorali. Questa maggiore presenza di cellule iNKT nelle aree tumorali si accompagnava ad un'abbondanza di neutrofilo. Ulteriori analisi hanno rivelato che una specifica specie batterica pro-tumorigenica del microbiota intestinale – *Fusobacterium nucleatum*– era la più abbondante nelle aree tumorali e, sebbene non influenzasse l'attività citotossica delle cellule iNKT contro le cellule tumorali, era in grado di modificare la funzione delle cellule iNKT che quindi erano maggiormente in grado di attirare i neutrofilo verso il tumore. I neutrofilo reclutati nelle aree tumorali dalle cellule iNKT “modificate” dalla presenza di *Fusobacterium* erano immunosoppressivi e ciò determinava una maggiore crescita del tumore. Se invece le cellule iNKT venivano eliminate, nelle aree tumorali venivano reclutati meno neutrofilo e di conseguenza la crescita/formazione del tumore si riduceva notevolmente. L'attività antitumorale delle cellule iNKT poteva essere inoltre modulata ripristinando il loro potenziale citotossico attraverso il trattamento con α - galactosylceramide (una molecola con un noto ruolo nella stimolazione delle iNKT); questo trattamento conferiva infatti nuovamente alle cellule la capacità di limitare la crescita del tumore. Infine, a sostegno della rilevanza clinica delle nostre scoperte, abbiamo mostrato che era possibile stratificare i pazienti con tumore del colon-retto sulla base dell'abbondanza di cellule iNKT all'interno della massa tumorale: un minor numero di cellule iNKT (che richiamava meno neutrofilo immunosoppressivi) rifletteva una migliore sopravvivenza dei pazienti a quattro anni. E' interessante sottolineare che gli effetti –in termini prognostici–, riportati in studi precedenti, associati con la presenza/assenza dei neutrofilo, si perdevano nel caso in cui nel tumore fossero presenti le cellule iNKT, indicando che gli effetti benefici dei neutrofilo sul decorso clinico richiedevano una concomitante scarsa infiltrazione del tumore da parte delle cellule iNKT (PMID: 37004750).

Abbiamo generato e messo a disposizione della comunità scientifica uno strumento -BugSigDB- prezioso per gli studi sul microbiota. BugSigDB è un database che raccoglie oltre 2500 signature del microbiota, da oltre 600

studi pubblicati, associate con varie condizioni di salute e trattamenti (ad esempio, assunzione di antibiotici), derivanti da esperimenti su modelli animali e studi clinici, corredate di informazioni riguardanti il design dello studio, metodi sperimentali e statistici, consentendo di effettuare dei confronti sistematici tra studi nuovi e pubblicati. Sfruttando BugSigDB, abbiamo dimostrato che l'interpretazione di nuovi studi sul microbioma può beneficiare del confronto sistematico con altre signature precedentemente pubblicate. BugSigDB contiene signature del microbiota derivanti da studi umani, murini e di ratto (generati sia tramite 16S amplicon sequencing che metagenomic shotgun sequencing), ad una risoluzione che permette di distinguere fino alle singole specie batteriche, selezionabili per patologia –tra cui diversi tipi di tumore–, facilitando così le meta-analisi. Innanzi tutto le nostre analisi hanno evidenziato un certo grado di coerenza tra i vari studi, quindi tra le varie signature, soprattutto per quanto riguarda alcune malattie. Inoltre, per verificare la possibilità di applicare all'analisi del microbioma strumenti analitici tipicamente utilizzati nell'ambito delle signature geniche, abbiamo analizzato tutte le signature nel database, includendo due specifiche signature associate al tumore del colon-retto e ottenute per meta-analisi da due studi precedenti. Questa analisi ha individuato, all'interno del database, le signature di tumore del colon-retto; tra queste, erano presenti le due derivanti dalla meta-analisi, confermando allo stesso tempo l'affidabilità di queste signature associate al tumore del colon-retto. Inoltre, confrontando le signature nel database, abbiamo valutato quanto spesso, o in che condizioni sperimentali, singole specie microbiche erano positivamente associate, ovvero presenti (nello specifico, maggiormente abbondanti) insieme nelle signature, oppure quanto spesso la presenza di una specie significava automaticamente che un'altra non era presente (o meno abbondante). Queste relazioni ricapitolavano quelle tipicamente riscontrate nei campioni sani, suggerendo che uno stato patologico non sia indotto dal manifestarsi di interazioni anomale tra diverse specie microbiche. Le nostre analisi hanno anche evidenziato dei punti in comune tra signature di malattie differenti ma in qualche modo collegate, come infezione da HIV e tumori gastrointestinali, entrambi caratterizzati da infiammazione cronica del tratto gastrointestinale, oppure nel caso della sindrome da affaticamento cronico e la tiroidite di Hashimoto: le due condizioni hanno signature simili e l'affaticamento cronico è un sintomo diffuso tra gli individui con tiroidite di Hashimoto. Infine, i nostri risultati hanno mostrato che alcune specie microbiche erano associate in maniera specifica ad una data malattia e quindi rappresentavano dei potenziali biomarcatori (PMID: 37697152).

Abbiamo sviluppato e validato un nuovo strumento computazionale per recuperare dai dati di sequenziamento dei tumori dei pazienti le informazioni sul microbiota associato al tumore e abbiamo effettuato uno studio sistematico della relazione tra caratteristiche molecolari, cliniche e prognostiche del tumore e del loro microbiota. I dati molecolari dei tumori dei pazienti, che sono ottenuti tramite il sequenziamento del tessuto tumorale, contengono sia i dati delle cellule tumorali sia i dati del microbiota associato al tessuto tumorale. Lo strumento computazionale da noi sviluppato permette di estrarre da questi dati di sequenziamento del tumore l'informazione sul microbiota, identificando ed eliminando anche la contaminazione sperimentale, al fine di ottenere informazioni

molecolari pure del microbiota. Usando il nostro strumento computazionale e i dati di diversi tipi di tumore (raccolti dal database TCGA) abbiamo caratterizzato simultaneamente, in un gran numero di campioni, il tumore e il microbioma, catturando così l'associazione tra il microbioma e le caratteristiche molecolari del tumore. Abbiamo successivamente validato questo strumento usando una coorte di pazienti IEO con tumore al colon: lo strumento si è dimostrato in grado di dedurre in maniera accurata la composizione del microbioma dai dati (che contenevano sia il tumore che il microbiota; estraeva quindi in maniera efficiente i dati del microbioma). Successivamente, abbiamo identificato una correlazione tra la composizione del microbiota (come rilevata dal nostro strumento computazionale) e le caratteristiche cliniche del tumore: in particolare, abbiamo osservato che specifici fattori (come il sottotipo molecolare del tumore, l'esito clinico e l'aneuploidia) correlano con –e sono influenzati da– l'abbondanza di specifici ceppi batterici che costituiscono il microbiota umano. Inoltre, abbiamo osservato che alcuni ceppi batterici –come *Faecalibacterium prausnitzii*, *Coprococcus comes*, *Bacteroides* spp., *Fusobacterium* spp. e *Clostridium* spp.– sono associati con una migliore prognosi dei pazienti. Lo sviluppo -e la validazione- di questo nostro nuovo approccio computazionale, che permette di analizzare simultaneamente le caratteristiche molecolari e cliniche del tumore e il microbiota associato, mostra il potenziale prognostico della caratterizzazione del profilo del microbiota (PMID: 37131219).

Abbiamo sviluppato un nuovo approccio computazionale per la caratterizzazione metagenomica del microbiota intestinale -MetaPhlan 4-, che sfrutta sia le raccolte genomiche derivanti dai metodi reference-based, sia le raccolte di metagenomi ottenute assemblando i diversi genomi microbici in metagenomi. Integrando i due metodi, MetaPhlan 4 crea il più grande database esistente, che comprende sia i genomi di specie note (ottenuti con gli strumenti reference-based) sia quelli di specie non caratterizzate (derivanti dall'assemblaggio in metagenomi), su cui lavora l'algoritmo di MetaPhlan4. MetaPhlan4 sfrutta questi dati attraverso la definizione di geni marker che identificano in maniera precisa ogni diversa specie (nota o non caratterizzata). Il nuovo database amplia lo strumento MetaPhlan esistente e si è dimostrato eccellente nell'identificazione di specie non caratterizzate, consentendo un'analisi e uno studio più accurato del ruolo del microbioma nella fisiologia umana (PMID: 36823356 e 37141097).

Biomarcatori

Abbiamo identificato un nuovo approccio per la stratificazione dei pazienti, da poter affiancare agli attuali biomarcatori per aumentarne il valore prognostico. Abbiamo infatti mostrato che i pazienti con tumore del colon-retto possono essere classificati in due gruppi sulla base dell'abbondanza all'interno della massa tumorale di neutrofili che esprimono livelli elevati della proteina CD15. Nei tumori in cui è presente un elevato numero di questo sottotipo di neutrofili c'è infatti anche abbondanza di un sottotipo di linfociti T (linfociti T CD8 della memoria) caratterizzati dall'elevata espressione del granzima K (GZMK). Questi pazienti hanno una prognosi

peggiore. Nel contesto di uno studio clinico, abbiamo arruolato pazienti con tumore del colon-retto non trattati, non metastatici, operabili. All'interno della coorte di pazienti, abbiamo identificato due sottogruppi: un gruppo di pazienti in cui all'interno della massa tumorale era presente un gran numero di neutrofili caratterizzati dall'elevata espressione della proteina CD15 (HN) e un gruppo di pazienti in cui era presente un minor numero di neutrofili caratterizzati dall'elevata espressione della proteina CD15 (LN). L'accumulo di neutrofili è indotto dal rilascio nel microambiente tumorale di specifiche molecole infiammatorie solubili. La percentuale di neutrofili è inversamente correlata con l'abbondanza dei macrofagi. Nel microambiente tumorale i neutrofili interagiscono direttamente con i linfociti T CD8, inducendo in questi ultimi l'espressione della proteina GZMK, che promuove la progressione tumorale. I linfociti T che esprimono GZMK sono caratterizzati da uno specifico profilo di espressione genica e la loro abbondanza è associata con la manifestazione precoce di recidiva nei pazienti. Questi tumori esprimono livelli molto bassi di E-Caderina, un tratto associato ai tumori maligni e al processo di transizione epitelio-mesenchimale -processo tipicamente legato alla disseminazione metastatica delle cellule tumorali. Questo studio ci ha permesso quindi di dimostrare il valore prognostico dell'abbondanza di neutrofili nel microambiente tumorale dei pazienti con tumore del colon-retto, sottolineando in particolare la correlazione, in un sottogruppo di pazienti, tra l'accumulo della sottopopolazione di neutrofili –caratterizzata da alti livelli di proteina CD15– e l'abbondanza di linfociti T intratumorali –che esprimono GZMK–, con la recidiva. I nostri dati indicano il ruolo di neutrofili CD15^{high} e linfociti T CD8 GZMK^{high} nella progressione del tumore, evidenziando come la loro presenza all'interno della massa tumorale possa avere un valore prognostico –affiancando gli attuali biomarcatori– e sottolineando le implicazioni terapeutiche di queste scoperte (PMID: 36347862).

Abbiamo combinato approcci di proteomica e machine learning per caratterizzare le microvescicole all'interno del siero, che sono caratterizzate da uno specifico contenuto proteico che rispecchia le caratteristiche della cellula da cui sono state rilasciate. Abbiamo identificato una lista di potenziali biomarcatori, ovvero delle specifiche proteine in grado di distinguere i pazienti con tumore al polmone negli stadi precoci dai soggetti sani ad alto rischio di sviluppare la malattia. I campioni di sangue di 46 pazienti con tumore al polmone negli stadi precoci e di 41 soggetti sani ad alto rischio sono stati raccolti nell'ambito di uno studio prospettico IEO. Le microvescicole sono state isolate dal sangue sfruttando una procedura relativamente economica (una centrifugazione ad alta velocità) e rapida, quindi potenzialmente applicabile in coorti numerose di pazienti nel contesto di un futuro screening. L'analisi delle microvescicole piuttosto che del siero intero si è dimostrata più efficiente, consentendo l'identificazione di un maggior numero di proteine. Su questi campioni, tramite analisi di spettrometria di massa e machine learning, abbiamo identificato una lista di proteine diversamente espressa nei pazienti e nei soggetti sani, che rappresentano dei potenziali biomarcatori in grado di distinguere i pazienti con tumore al polmone negli stadi precoci dai soggetti sani. Sebbene sia necessaria una validazione ulteriore attraverso altri approcci biochimici e/o in coorti di pazienti più numerose, questi biomarcatori potrebbero essere

impiegati in futuro per sviluppare degli strumenti diagnostici utilizzabili in un contesto clinico-diagnostico (PMID: 36645712).

Nell'ambito di una collaborazione internazionale, abbiamo analizzato l'impatto dell'organizzazione spaziale delle cellule nel microambiente tumorale sulla risposta al trattamento con inibitori dei checkpoint immunitari in pazienti con tumore al seno. Abbiamo caratterizzato l'espressione, in situ, in sezioni tumorali derivanti da pazienti trattati con inibitori dei checkpoint immunitari in setting neoadiuvante, di 43 proteine, a tre diversi momenti durante il percorso di cura, ovvero prima del trattamento, appena dopo l'inizio del trattamento, e alla fine del trattamento. Lo studio ha mostrato che il numero di cellule T CD8 TCF1 proliferanti e di cellule tumorali MHCII-positive sono predittori di risposta al trattamento, seguiti dall'interazione tra le cellule tumorali con il sistema immunitario (nello specifico, cellule B e cellule T granzyme B-positive). Durante il trattamento, i tumori sensibili contenevano un gran numero di cellule T granzima B-positive, mentre i tumori resistenti erano caratterizzati da cellule tumorali CD15-positive. Quindi, abbiamo osservato che il fenotipo cellulare, lo stato di attivazione e la posizione della cellula -e la sua interazione con le cellule circostanti- sono associati, influenzano la risposta al trattamento, e differiscono nei tumori resistenti rispetto a quelli sensibili, indicando che l'organizzazione spaziale delle cellule all'interno del microambiente tumorale è uno dei principali determinanti dell'effetto della terapia con inibitori dei checkpoint immunitari (PMID: 37674077).

Abbiamo effettuato uno studio per valutare la relazione tra l'età gestazionale (primo vs secondo vs terzo trimestre) al momento della diagnosi di cancro al seno e la composizione del microambiente tumorale, per meglio comprendere i fattori che rendono il tumore al seno durante la gravidanza una condizione -sebbene rara- molto aggressiva, e che è stata precedentemente associata con la presenza di linfociti infiltranti (TIL) all'interno della massa tumorale. A questo scopo, abbiamo analizzato 108 pazienti e abbiamo caratterizzato il loro profilo in termini di TIL. I nostri risultati mostrano che la dinamica del microambiente tumorale varia in base all'età gestazionale, suggerendo che una tolleranza immunitaria potrebbe spiegare l'aumentata aggressività dei tumori diagnosticati in questo stadio (PMID: 37671051).

Al fine di definire biomarcatori prognostici di trasformazione maligna in pazienti affetti da displasia della mucosa epiteliale a livello della laringe, abbiamo analizzato, tramite immunohistochimica e next-generation sequencing, i campioni tissutali di 31 pazienti, così da definirne lo stato mutazionale e immunologico. I nostri risultati mostrano una correlazione significativa tra la presenza di TIL nei campioni e il rischio -elevato- di trasformazione maligna, indicando il potenziale dei TIL nell'identificazione di casi in cui la displasia ha un elevato rischio di progressione maligna così da definire protocolli di sorveglianza adeguati e programmi di prevenzione (PMID: 36831458).

Analizzando retrospettivamente i dati di tutti i pazienti con tumore al seno che si sono rivolti al nostro istituto per un test genetico per i geni BRCA1 e BRCA2, abbiamo osservato che alterazioni del gene BRCA1, ma non

BRCA2, sono associate con un aumentato rischio di sviluppare tumore al seno metaplastico, uno specifico sottotipo di tumore con la prognosi peggiore (PMID: 37460658).

Nel contesto di una collaborazione, abbiamo studiato l'evoluzione del panorama genomico del tumore al seno HR+ HER2- durante la terapia endocrina adiuvante. La caratterizzazione genomica di campioni tumorali chirurgici HR+ HER2- recidivanti durante o al completamento della terapia adiuvante, utilizzando un pannello genico personalizzato, ha consentito la valutazione completa delle alterazioni geniche in campioni tumorali e metastatici corrispondenti. In aggiunta alle alterazioni genomiche precedentemente riportate, tra cui PIK3CA, TP53, CDH1, GATA3 e mutazioni/delezioni di ESR1, abbiamo osservato che l'amplificazione del gene ESR1 e le mutazioni di MAPK3K erano maggiormente presenti nelle lesioni metastatiche rispetto ai tumori primari corrispondenti. Queste alterazioni erano presenti esclusivamente in pazienti trattati con inibitori dell'aromatasi o analoghi LHRH più tamoxifen, ma non in quelli trattati con tamoxifen soltanto. I pazienti con tumori caratterizzati da mutazioni di MAPK3K nelle lesioni metastatiche avevano una sopravvivenza in assenza di recidiva distante significativamente peggiore e una peggiore sopravvivenza in generale, indipendentemente da altre variabili clinicamente rilevanti. Il nostro studio quindi suggerisce che l'amplificazione di ESR1 e mutazioni attivanti di MAP3K potrebbero essere, in questi pazienti, potenziali driver di acquisizione di resistenza a terapia endocrina adiuvante e mostrano che le mutazioni di MAP3K sono associate con una peggiore prognosi in pazienti con malattia metastatica (PMID: 36595552).

Abbiamo stimato il valore di instabilità dei microsatelliti (MSI) e positività a HER2 come potenziali biomarcatori prognostici in pazienti con tumore gastrico localmente avanzato, che possano guidare i clinici nella decisione per il trattamento più appropriato. Lo studio, retrospettivo, ha raccolto i dati di pazienti trattati con chemioterapia neoadiuvante e chirurgia, con o senza chemioterapia adiuvante; lo stato di HER2 e MSI è stato valutato sui campioni chirurgici. Il nostro lavoro conferma il valore prognostico di MSI in questo tipo di tumore (PMID: 37084152).

Abbiamo effettuato uno studio volto a testare l'applicazione della radiomica nel campo dei tumori testa-collo. Lo studio, retrospettivo, ha preso in considerazione immagini di MRI in pazienti con carcinoma cellula squamosa della lingua prima dell'intervento chirurgico. I nostri risultati suggeriscono che la radiomica basata su MRI in questo tumore rappresenta un metodo non invasivo promettente per migliorare la capacità predittiva prima della chirurgia (PMID: 36779382).

Le firme molecolari (signature) in ambito clinico.

Nel contesto dello studio PROCURE, abbiamo condotto un sondaggio per valutare l'uso delle signature geniche tra esperti nell'ambito del trattamento del tumore al seno. Sulla base della risposta di 133 esperti, il nostro studio

ha evidenziato che sebbene l'impiego delle signature sia aumentato negli ultimi anni, la sua diffusione è ancora limitata in Europa rispetto agli Stati Uniti. Sebbene i clinici siano nel complesso a conoscenza delle raccomandazioni sull'utilizzo delle signature, in alcune aree è necessaria una migliore formazione per assicurare un utilizzo adeguato delle signature e per una corretta interpretazione dei risultati al fine di supportare il processo decisionale (PMID: 36828834).

Nell'ambito di una collaborazione internazionale, abbiamo analizzato il panorama genomico dei tumori HER2-low e HER2-o, nei campioni tumorali di 1039 pazienti. I nostri dati non hanno evidenziato differenze significative in termini di alterazioni genomiche o tumor mutational burden, ad eccezione del più elevato numero di copie di ERBB2 nei tumori HER2-low e un più elevata frequenza di emi-delezioni di ERBB2 nei tumori HER2-o, sottolineando l'assenza di un profilo genomico distinto dei tumori HER2-o, e supportando il fatto che i tumori HER2-low non dovrebbero essere considerati un sottotipo molecolare distinto di tumore al seno (PMID: 37980405).

Nell'ambito di una collaborazione, nel contesto dello studio RATIONAL - Italian Register of Actionable Mutations -, promosso da Federation of Italian Cooperative Oncology Groups (FICOG) per raccogliere i dati di caratterizzazione tumorale ottenuti tramite sequenziamento basato su NGS, abbiamo descritto la frequenza di mutazioni actionable -per cui è quindi disponibile un'opzione terapeutica- in 876 pazienti, con diversi tipi di tumore, analizzati tramite NGS, offrendo allo stesso tempo una descrizione dell'impiego di pannelli genomici NGS nella pratica clinica attuale in Italia. Lo studio ha evidenziato lo scarso utilizzo ad oggi nella pratica clinica in Italia di pannelli NGS che coprono una vasta gamma di geni, utilizzati più frequentemente in pazienti già sottoposti a precedenti trattamenti, mentre pannelli più piccoli, che coprono un numero limitato di geni, sono più frequentemente utilizzati anche prima del trattamento. Inoltre, lo studio ha evidenziato, in linea con studi precedenti, che solo una piccola percentuale dei pazienti con tumori caratterizzati da alterazioni clinicamente rilevanti ha di fatto ricevuto un'appropriata terapia molecolare (PMID: 37167765).

Abbiamo identificato e validato una signature di 9 geni in grado di predire la sopravvivenza di pazienti con Mycosis fungoides (MF) -ovvero il più comune linfoma cutaneo, caratterizzato da un decorso indolente in cui il microambiente tumorale è noto essere coinvolto nella patogenesi e nella progressione- e distinguere i pazienti ad alto rischio, con una peggiore prognosi, utilizzando un PanCancer Immune Profiling Panel. Inoltre, a livello molecolare i casi a basso rischio mostrano, rispetto ai casi ad alto rischio, una up-regolazione di geni immunitari, ed una maggiore densità di cellule dendritiche e mastociti, possibilmente associate con un più favorevole decorso clinico (PMID: 37566023).

Nell'ambito di una collaborazione, abbiamo effettuato una caratterizzazione genomica e trascrittomico di cellule staminali tumorali derivanti dal glioblastoma dei pazienti, al fine di confermare il loro potenziale per lo studio dei meccanismi genetici ed epigenetici di trasformazione maligna e per testare nuovi farmaci. Attraverso

effettuato un'analisi genomica e trascrittomica completa dei campioni tumorali e la caratterizzazione molecolare completa di questi campioni rappresenta una risorsa preziosa nell'ambito della ricerca sul glioblastoma, in un'ottica di medicina di precisione (PMID: 37140883).

Nuovi approcci terapeutici e meccanismi molecolari – valutazione preclinica.

Abbiamo identificato, in modelli preclinici di melanoma metastatico derivante dai pazienti, una nuova efficace combinazione di farmaci che, colpendo simultaneamente tre punti deboli delle cellule tumorali, come AURKA – con alisertib–, MEK –con trametinib, un farmaco approvato per il trattamento del melanoma–, e la signaling di ossidazione degli acidi grassi –con etomoxir–, limita fortemente la progressione del melanoma. Essendo già stati testati separatamente in studi clinici, questa combinazione di farmaci potrebbe essere facilmente riproposta in ambito clinico. Innanzi tutto, abbiamo messo a punto, nel melanoma, un nuovo approccio di screening che permette di identificare i punti deboli delle cellule tumorali valutando la loro capacità di migrare. In breve, abbiamo espresso in cellule di melanoma derivanti dai pazienti una libreria di shRNA per silenziare l'espressione di 77 geni frequentemente alterati nei tumori e per cui sono disponibili dei farmaci specifici che possono essere eventualmente riposizionati in ambito clinico per il trattamento del melanoma. Se il silenziamento –tramite shRNA– di uno di questi 77 geni limita la migrazione delle cellule o la crescita del tumore, questo significa che il gene colpito gioca un ruolo chiave nella progressione del melanoma, rappresentando un punto debole della cellula tumorale. Questi screening, in vitro e in vivo, hanno identificato AURKA come gene critico nella progressione del melanoma: la perdita di funzione di AURKA (tramite silenziamento genico o tramite inibizione farmacologica con alisertib) in combinazione con l'inibitore di MEK (trametinib) compromette fortemente la migrazione delle cellule tumorali in vitro e la crescita del tumore in vivo. La combinazione degli inibitori di AURKA e MEK aumenta in maniera significativa l'effetto dei due farmaci somministrati separatamente, indipendentemente dal background genetico (ovvero ha un effetto simile in cellule di melanoma con mutazioni nei geni NRAS o BRAF e nelle triple wt); è inoltre ancora più efficiente della terapia standard, ed è efficace anche in modelli resistenti alla terapia standard. Dal punto di vista del meccanismo, il trattamento combinato induce un effetto additivo sull'arresto del ciclo cellulare, una profonda alterazione trascrizionale e l'attenuazione di diversi pathway, tra cui quelli legati alla proliferazione, alla migrazione, alla transizione epitelio-mesenchimale, alla motilità cellulare e il pathway di mTOR. Le cellule di melanoma trattate con alisertib and trametinib –forse nel tentativo di sfuggire alla morte cellulare indotta dall'inibizione contemporanea di due geni fondamentali per la loro sopravvivenza, AURKA e MEK– riprogrammano il loro metabolismo, upregolando il pathway di ossidazione degli acidi grassi (FAO): come risposta adattativa della cellula tumorale al trattamento, la signaling di FAO diventa così un punto debole “acquisito” delle cellule di melanoma. Il trattamento combinato con inibitori di AURKA, MEK e della signaling di FAO, infatti, riduce ulteriormente la migrazione in vitro, ripristina i livelli di espressione dei geni

FAO e induce regressione del tumore in vivo, prolungando così la sopravvivenza degli animali. Dato che l'up-regolazione della signaling di FAO e il suo ruolo come punto debole del tumore emerge solo in seguito al trattamento, le cellule che non sono state precedentemente trattate con inibitori di AURKA e MEK sono meno sensibili al trattamento con l'inibitore della signaling di FAO (PMID: 37003468).

Abbiamo dimostrato che la sensibilità delle cellule tumorali che sovraesprimono Myc al trattamento con IACS si basa sullo stress ossidativo. La sovraespressione di Myc e il trattamento con IACS indipendentemente aumentano l'ossidazione delle cellule. Quando ciò si verifica simultaneamente, si acuisce lo stress ossidativo, attivando i meccanismi cellulari di risposta allo stress che determinano la morte cellulare. In queste cellule, già fortemente stressate, la somministrazione di dosi elevate di vitamina C aumenta ulteriormente il livello di ossidazione e quindi la tossicità. In particolare, abbiamo mostrato che la sovraespressione di Myc e il trattamento con IACS aumentano fortemente il livello di ossidazione e inducono la risposta cellulare allo stress (integrated stress response), che a sua volta determina la morte cellulare. La tigeciclina agisce nello stesso modo, indicando una risposta comune a farmaci che interferiscono con il funzionamento dei mitocondri. L'aggiunta di glucosio al mezzo di coltura delle cellule contrasta l'effetto citotossico di IACS, perché le cellule usano il glucosio per sostenere (attraverso la rigenerazione del NADPH dal NADP, ottenuta attraverso la via dei pentoso fosfati) la produzione di GSH (la principale molecola antiossidante delle cellule) al fine di gestire l'ossidazione indotta dal trattamento con IACS che, altrimenti, le ucciderebbe. Abbiamo quindi fornito uno stimolo ossidativo ulteriore a cellule che, per via della sovraespressione di Myc e al trattamento con IACS, mostravano livelli di ossidazione elevati e tossici. Dato che studi precedenti in modelli preclinici hanno mostrato che dosi elevate di vitamina C aumentano l'ossidazione cellulare e, in studi clinici, mentre la somministrazione di dosi elevate di vitamina C da sola non aveva alcun effetto antitumorale, era efficace quando combinata con la chemioterapia, abbiamo somministrato dosi elevate di vitamina C alle cellule tumorali che sovraesprimono Myc, trattate con IACS: la vitamina C aumenta i livelli di ossidazione e di conseguenza la morte cellulare. E' interessante sottolineare che l'aggiunta di glucosio al mezzo di coltura in questo caso non è sufficiente a ridurre la morte cellulare. Il trattamento con IACS aumenta il ferro intracellulare libero, che è così disponibile a reagire con la vitamina C, aumentando lo stress ossidativo e causando la morte cellulare attraverso diversi meccanismi (tra cui il processo di ferroptosi). L'effetto citotossico del trattamento combinato con IACS e dosi elevate di vitamina C è efficace anche in modelli preclinici di linfoma dei linfociti B caratterizzati dalla sovraespressione di Myc, rallentando in maniera significativa la crescita tumorale. Con questo studio abbiamo quindi provato che lo stress ossidativo indotto dalla sovraespressione di Myc può essere ulteriormente esacerbato dal co-trattamento con IACS e dosi elevate di vitamina C. L'espressione di Myc potrebbe quindi rappresentare un marcatore di efficacia per trattamenti basati su farmaci pro-ossidanti, aprendo la strada a studi futuri volti a testare la vitamina C in

combinazione con altri farmaci antitumorali pro-ossidanti, per aumentare la loro efficacia anche a dosi più basse e più sicure, come parte di regimi terapeutici in tumori resistenti alle attuali terapie (PMID: 37158102).

Sfruttando farmaci metabolici diversi –ovvero metformina e IACS (noto inibitore di oxphos)– abbiamo confermato l'efficacia di un trattamento combinato che interferisce allo stesso tempo con la glicolisi e con oxphos per uccidere le cellule tumorali, e ne abbiamo definito il meccanismo coinvolto. Interferire con il metabolismo delle cellule tumorali rappresenta infatti un approccio terapeutico antitumorale molto promettente. Grazie alla loro intrinseca plasticità, le cellule tumorali sono però in grado di adattarsi e sopravvivere. Ad esempio, in seguito all'inibizione di un pathway metabolico –e.g. l'inibizione di oxphos tramite metformina, un farmaco comunemente usato per il trattamento del diabete di tipo 2– le cellule tumorali sfruttano un pathway alternativo –la glicolisi– per sopravvivere; analogamente, quando la glicolisi è compromessa (ad esempio quando le cellule si trovano in condizioni di basso glucosio) si affidano a oxphos. Se però questi due pathway vengono inibiti contemporaneamente, le cellule non sono più in grado di adattarsi e muoiono. Infatti, studi preclinici hanno precedentemente mostrato l'efficacia antitumorale di un approccio che combina il digiuno (che compromette la glicolisi) e il trattamento con metformina (per inibire oxphos). In accordo con i nostri dati precedenti, l'inibizione di oxphos con IACS (come avviene per la metformina) induce le cellule ad affidarsi alla glicolisi per sopravvivere. Sebbene il forte stress ne rallenti la proliferazione, le cellule non muoiono. Se però allo stesso tempo viene compromessa anche la glicolisi, mantenendo le cellule in coltura in condizioni di basso glucosio, le cellule muoiono. Anche in vivo il trattamento con IACS interferisce con la proliferazione cellulare e di conseguenza limita la crescita del tumore. Inoltre, quando i topi sono tenuti a digiuno (simulando le condizioni di basso glucosio delle colture in vitro e danneggiando la glicolisi) il trattamento con IACS, inibendo oxphos, induce la morte delle cellule tumorali. Abbiamo quindi analizzato in dettaglio il meccanismo coinvolto: analogamente a quanto succede in seguito al trattamento con metformina, nelle condizioni in cui la glicolisi è compromessa (ovvero in vitro in condizioni di limitata disponibilità di glucosio e in vivo in condizioni di digiuno) l'inibizione di oxphos mediata da IACS aumenta il livello di ossidazione (ovvero la produzione di specie reattive dell'ossigeno –ROS– da parte dei mitocondri); ciò a sua volta induce la degradazione della proteina CIP2A. Dato che CIP2A inibisce PP2A, in seguito alla sua degradazione indotta dai ROS, l'attività di PP2A risulta aumentata, attivando a sua volta GSK3beta e determinando la down-regolazione della proteina antiapoptotica MCL1, inducendo infine la morte cellulare (l'arresto della proliferazione sembra invece sfruttare un pathway diverso). Grazie a questo lavoro, abbiamo quindi definitivamente dimostrato che mentre compromettere un pathway metabolico –la glicolisi o oxphos– lascia alle cellule la possibilità di sopravvivere attivando l'altro pathway, quando questi due pathway sono inibiti insieme si induce la morte cellulare. Abbiamo osservato questo effetto in due diverse linee cellulari, suggerendo che il meccanismo potrebbe essere conservato in tipi diversi di tumore. Abbiamo inoltre dimostrato che l'evento chiave che induce la cascata biochimica che porta alla morte cellulare è l'aumentato livello di ossidazione indotto

dall'inibizione di oxphos (con IACS o metformina) che, quando la glicolisi è compromessa, induce la morte cellulare. La metformina è usata per il trattamento dei pazienti diabetici; studi preliminari ne suggeriscono un potenziale utilizzo anche per il trattamento dei tumori, ma ad oggi i risultati sono poco chiari. Questo studio indica che la terapia di combinazione digiuno e metformina –o IACS– potrebbe risultare clinicamente efficace anche a concentrazioni più basse e quindi con una minore tossicità (PMID: 37289585).

Grazie ad una proficua collaborazione multidisciplinare tra la Divisione di Prevenzione e Genetica Oncologica dell'IEO e il Dipartimento di Oncologia Sperimentale, IARC e la San Diego University of California, abbiamo svelato i meccanismi molecolari responsabili degli effetti antitumorali della metformina, un farmaco comunemente usato nel trattamento del diabete di tipo 2, con limitati effetti collaterali, che diversi studi epidemiologici hanno mostrato ridurre il rischio di tumore e migliorare la prognosi dei pazienti, e che studi preclinici hanno dimostrato avere un effetto sinergico della metformina con il digiuno intermittente (che induce una moderata riduzione di glucosio) sulla crescita tumorale. I nostri studi hanno permesso di identificare i metaboliti influenzati dal trattamento ed i pathway metabolici coinvolti, nelle pazienti in sovrappeso o obese sopravvissute al tumore al seno, pazienti che hanno una maggiore probabilità di manifestare recidiva. Applicando in parallelo tre diversi approcci metabolomici per untargeted metabolomics, per un'analisi completa di tutti i metaboliti nel campione; targeted metabolomics, per la misurazione di specifici metaboliti; analisi degli acidi grassi, abbiamo effettuato una caratterizzazione metabolica approfondita dei campioni. Abbiamo analizzato i campioni di sangue, prima e alla fine del trattamento con metformina, di 373 pazienti arruolate nel contesto di due diversi studi clinici (lo studio italiano "MetBreCS" condotto in IEO e lo studio americano "Reach for Health"), rispetto ai pazienti nel gruppo placebo. Analizzando l'abbondanza di specifici metaboliti e di acidi grassi nel plasma dei pazienti prima e dopo il trattamento con metformina ha permesso di identificare diversi metaboliti e acidi grassi la cui abbondanza viene modificata in seguito al trattamento con metformina. I cambiamenti indotti dal trattamento con metformina e rilevati tramite le analisi metabolomiche indicano il coinvolgimento di specifici pathway metabolici associati al processo di tumorigenesi, approfondendo i meccanismi alla base degli effetti antitumorali della metformina, che potrebbe ridurre il rischio di recidiva in pazienti obesi o in sovrappeso (PMID: 36581893).

Abbiamo mostrato che il trattamento con beta bloccanti – farmaci che bloccano l'interazione tra la norepinefrina rilasciata dai neuroni simpatici che innervano il tumore e il suo recettore, normalmente utilizzati per il trattamento dell'ipertensione– riduce il rischio di recidiva delle pazienti con TNBC trattate con chemioterapia a base di antracicline. Studiando il meccanismo implicato, abbiamo dimostrato che la chemioterapia determina, come effetto collaterale, l'uccisione delle cellule tumorali, un aumento dell'innervazione del tumore e dell'attività dei neuroni. Questi fattori normalmente promuovono la disseminazione metastatica, ma in questo caso rendono le cellule tumorali sensibili all'azione antitumorale dei beta bloccanti, i quali riducono la progressione metastatica. Analizzando i dati di donne con tumore al seno trattate con chemioterapia abbiamo osservato che la

somministrazione dei beta bloccanti – inibitori della signaling della norepinefrina – potenzia gli effetti della chemioterapia, riducendo il rischio di recidiva rispetto alle donne trattate soltanto con chemioterapia. Il trattamento combinato chemioterapia/beta bloccanti non ha alcun effetto sulla crescita del tumore primario, suggerendo che la combinazione sia specifica per le metastasi. Studi in modelli preclinici hanno confermato la ridotta progressione metastatica in seguito al trattamento combinato con chemioterapia e inibitori della signaling della norepinefrina. I beta bloccanti agiscono in sinergia con la chemioterapia, dato che in assenza di trattamento chemioterapico, non avevano alcun effetto. Un fattore critico in questo meccanismo è l'NGF: la chemioterapia aumenta l'espressione e la secrezione dell'NGF da parte delle cellule tumorali; ciò a sua volta aumenta l'innervazione del tumore e l'attività dei neuroni, promuovendo di conseguenza la progressione metastatica (senza influenzare invece la crescita del tumore primario), ma rendendo il sistema sensibile ai beta bloccanti. L'effetto della chemioterapia non è limitato all'azione (tramite l'NGF) sull'innervazione del tumore, ma ha anche un effetto sulle cellule tumorali sopravvissute: le cellule tumorali upregolano il recettore della norepinefrina e questo potenzia di conseguenza la risposta alla maggiore attività dei neuroni che innervano il tumore. In conclusione, grazie a questo studio abbiamo descritto il meccanismo alla base dell'effetto sinergico antimetastatico della somministrazione di beta bloccanti in combinazione con la chemioterapia, attraverso un'azione sulla signaling neuronale, sia a livello dell'innervazione simpatica del tumore (aumentando la signaling neuronale e l'innervazione tumorale) sia sul tumore stesso (aumentando la risposta alla signaling neuronale, attraverso la sovraespressione del recettore), offrendo quindi forti evidenze precliniche a supporto di studi clinici di fase III volti a un riposizionamento dei beta bloccanti come parte della terapia antitumorale per il TNBC (PMID: 37099632).

Abbiamo dimostrato, nell'ambito di uno studio preclinico, che il trattamento con Vinorelbine e ciclofosfamide intermittente sensibilizza un linfoma aggressivo a cellule B indotto da Myc al trattamento anti-PD1 stimolando una memoria immunologica. In particolare, abbiamo generato un modello di linfoma non-Hodgkin a cellule B indotto da Myc, altamente aggressivo e resistente a terapia anti-PD1, che può essere controllato in vivo da una tripla combinazione di ciclofosfamide, vinorelbina e anti-PD1, ma non da altri agenti chemioterapici. La memoria immunologica indotta negli animali sottoposti a questo trattamento è effettivamente in grado di controllare la progressione del tumore anche in seguito alla re-iniezione di un gran numero di cellule tumorali. Questo approccio terapeutico "triplo" induce infatti profonde modificazioni del sistema immunitario, influenzando le cellule NK circolanti e cellule del sistema immunitario adattativo, linfociti B e T, e riduce significativamente il numero di cellule CD4 e CD8 disfunzionali nella milza degli animali trattati (PMID: 37048617).

Nel contesto di una collaborazione, abbiamo valutato, in modelli preclinici in vitro ed in vivo, l'attività antitumorale di cabozantinib (CAB) per il trattamento di tumori neuroendocrini (neoplasie altamente vascolarizzate). I nostri risultati -in tre diverse linee cellulari e in modelli di xenotrapianto murini e di zebrafish- mostrano effetti

antitumorali incoraggianti, inducendo un arresto del ciclo cellulare, inibendo la migrazione, e l'angiogenesi (PMID: 37855330).

Nuovi approcci terapeutici – valutazione clinica.

Nell'ambito di una collaborazione nazionale, abbiamo condotto uno studio multicentrico -AVALON- volto a valutare l'efficacia del trattamento con venetoclax in combinazione con agenti ipometilanti nel trattamento della leucemia recidivante o refrattaria. Lo studio ha incluso 190 pazienti con leucemia mieloide acuta (AML), trattati con terapie che includevano venetoclax tra il 2015 al 2020. Nei pazienti con AML, i nostri dati hanno confermato i risultati eccellenti precedentemente riportati. Inoltre, nei casi di leucemia refrattaria o recidivante, il trattamento combinato ha indotto una remissione completa in una percentuale di casi sorprendente, ovvero 44% nelle leucemie refrattarie e 40% in quelle recidivanti, e ha conferito ai pazienti una buona aspettativa di sopravvivenza. La tossicità si è dimostrata nel complesso gestibile, con la maggior parte degli eventi avversi che si verificavano nei primi 60 giorni di terapia (PMID: 36692409).

Nel contesto dello studio multicentrico retrospettivo LATER-BC, analizzando 676 pazienti da 6 diversi centri, abbiamo dimostrato che un precedente trattamento con terapia con cisplatino di pazienti con tumore al seno caratterizzati da una mutazione patogena germinale nel gene BRCA influenza l'efficacia di un successivo trattamento con inibitori di PARP, e viceversa, suggerendo un probabile meccanismo biologico comune (PMID: 37437366).

Nel contesto di uno studio di fase 1, multicentrico, comprendente una fase di dose escalation e una fase di dose expansion, in pazienti con tumore al seno o gastrico HER2+, abbiamo valutato la sicurezza e la tollerabilità di un nuovo anticorpo anti-HER2 coniugato ad un farmaco (PF-06804103). In totale, sono stati arruolati 93 pazienti. Nel complesso, PF-06804103 ha mostrato una significativa attività antitumorale; sicurezza ed efficacia si sono dimostrati dipendenti dalla dose somministrata. Tuttavia, la manifestazione di eventi avversi ha determinato l'interruzione del trattamento in 48% circa dei pazienti (PMID: 37420274).

Abbiamo condotto uno studio multicentrico retrospettivo osservazionale su pazienti con diagnosi di leiomiomasarcoma gastrointestinale al fine di approfondire le conoscenze riguardo alla biologia, al comportamento clinico e alla sensibilità ai farmaci del leiomiomasarcoma gastrointestinale, un sottogruppo raro ed estremamente aggressivo di sarcoma, con una elevata tendenza a diffondersi per via sistemica. Il nostro studio ha evidenziato una elevata probabilità di successo del trattamento con chirurgia, con o senza chemioterapia, in una fase in cui, al momento della diagnosi, è ancora localizzato. Al contrario, la malattia metastatica è risultata avere una diagnosi peggiore (PMID: 37455549).

Analizzando l'esito clinico di pazienti con carcinoma neuroendocrino non metastatico della cervice -una malattia rara ed estremamente aggressiva- trattati con chirurgia e chemioterapia (neo)adiuvante, abbiamo evidenziato alcuni fattori prognostici indipendenti e significativi di event-free survival (ovvero stadiazione FIGO \geq IIB, radioterapia adiuvante external-beam con o senza brachiterapia), e il potenziale prognostico della brachiterapia per la sopravvivenza, evidenziando che questa malattia, allo stadio non-metastatico, richiede un approccio di trattamento multimodale pesato sulla base della stadiazione "FIGO" e l'aggiunta della brachiterapia dovrebbe essere considerata soprattutto nei pazienti con malattia localmente avanzata (PMID: 37428640).

Nell'ambito di una collaborazione, nel contesto dello studio clinico DESTINY-Breast03, abbiamo valutato l'efficacia e la sicurezza del trattamento con trastuzumab deruxtecan rispetto al trattamento con trastuzumab emtansine. Lo studio, multicentrico, randomizzato, di fase 3, ha coinvolto 169 centri in Nord America, Asia, Europa, Australia, Sud America, e ha arruolato 524 pazienti con tumore al seno metastatico o non resecabile, HER2-positivi, precedentemente trattati con trastuzumab e taxani. I risultati di questo studio hanno mostrato un significativo miglioramento nella sopravvivenza dei pazienti trattati con Trastuzumab deruxtecan rispetto a quelli trattati con trastuzumab emtansine, e la sopravvivenza in assenza di progressione della malattia più lunga mai riportata, confermando il trattamento con trastuzumab deruxtecan come l'approccio terapeutico standard di seconda linea, con un profilo di sicurezza gestibile anche nel caso di periodi di trattamento più lunghi (PMID: 36495879).

Nell'ambito di una collaborazione internazionale, abbiamo evidenziato come il trattamento di pazienti con tumore al seno ERBB2-positivi, in stadio avanzato, con metastasi cerebrali, con tucatinib in combinazione con trastuzumab e capecitabine determini un aumento della sopravvivenza e al tempo stesso una riduzione del rischio di sviluppare nuove lesioni cerebrali, evidenziando ulteriormente i benefici di questa opzione di trattamento in questa categoria di pazienti (PMID: 36454580).

Nel contesto di una collaborazione internazionale, nello studio clinico di fase 3 KEYNOTE-826, randomizzato, in doppio cieco, che ha arruolato pazienti in 151 diversi centri in 19 diversi paesi, abbiamo valutato, in pazienti con tumore della cervice metastatico, recidivante o persistente 1) efficacia e sicurezza dell'aggiunta di pembrolizumab al trattamento chemioterapico, con o senza bevacizumab. Lo studio suggerisce che l'aggiunta di pembrolizumab alla chemioterapia, con o senza bevacizumab, migliori la sopravvivenza delle pazienti (PMID: 38095881 e 37910822). Abbiamo inoltre valutato 2) l'eventuale miglioramento in termini di sopravvivenza e sopravvivenza in assenza di progressione in seguito all'aggiunta dell'anticorpo monoclonale anti-PD1 pembrolizumab alla chemioterapia, con o senza bevacizumab, rispetto a placebo e chemioterapia, con o senza bevacizumab. Lo studio ha evidenziato che l'aggiunta di pembrolizumab alla chemioterapia, con o senza bevacizumab, non influenza negativamente la qualità di vita delle pazienti, ma al contrario l'efficacia e la sicurezza del trattamento supportano i benefici del trattamento con pembrolizumab e il potenziale dell'immunoterapia in pazienti con tumore della cervice metastatico, persistente o recidivante, con tossicità gestibile (PMID: 36878237).

Nel contesto di uno studio clinico pan-cancer, agnostico al tumore, di fase 2b, condotto in 42 diversi istituti in 9 diversi paesi, abbiamo valutato l'efficacia della combinazione di inibitori di PARP e PDL1, avelumab e talazoparib, in pazienti con alterazioni patogeniche in BRCA1/2 o ATM, indipendentemente dal tipo di tumore. I risultati hanno evidenziato che un approccio clinico agnostico al tumore in questo caso non è una strategia ideale; la combinazione di farmaci testata è comunque ben tollerata, tuttavia l'efficacia antitumorale del trattamento combinato è evidente solo in alcuni pazienti con tumori associati a BRCA1/2 (come tumore ovarico, al seno, alla prostata e pancreatico) (PMID: 36394867).

Abbiamo riportato i risultati dello studio clinico di fase III KEYNOTE-775, che dimostra l'efficacia del trattamento con Lenvatinib e Pembrolizumab in pazienti con tumore dell'endometrio avanzato, recidivante o metastatico. In totale, sono state arruolate nello studio 827 pazienti. Il trattamento ha mostrato maggiori benefici in termini di sopravvivenza, sopravvivenza in assenza di progressione della malattia e risposta obiettiva, rispetto alla chemioterapia. Il profilo di tossicità si è rivelato nel complesso gestibile (PMID: 37058687) e l'analisi della qualità di vita ha mostrato un profilo rischio/beneficio favorevole del trattamento combinato (PMID: 37086595). Abbiamo inoltre effettuato una caratterizzazione delle reazioni avverse in seguito al trattamento, che si sono rivelate gestibili istruendo il paziente, e il team di trattamento, in maniera adeguata, adottando misure preventive e attraverso un monitoraggio stretto e l'utilizzo giudizioso, in contemporanea, di altri medicinali (PMID: 37523661).

Nel contesto di uno studio retrospettivo condotto presso il nostro istituto, che ha arruolato 63 pazienti, abbiamo valutato il ruolo di un trattamento chemioterapico neoadiuvante a dose densa seguito da isterectomia radicale nel ridurre la radioterapia adiuvante nel tumore della cervice di stadio IB1-IB2/IIA1 (secondo la stadiazione FIGO), dimostrando che questo approccio terapeutico potrebbe rappresentare una valida strategia per evitare la chemioterapia, mostrando una sopravvivenza del 92% e una sopravvivenza senza progressione di malattia a 5 anni del 79% (PMID: 37949488).

Nel contesto di uno studio clinico di fase 2, randomizzato, controllato, su pazienti con tumore ovarico resistenti al trattamento con platino, abbiamo valutato l'efficacia del trattamento con Relacorilant + Nab-Paclitaxel. Lo studio ha arruolato un totale di 178 donne. I risultati hanno mostrato che l'aggiunta di relacorilant migliora la sopravvivenza e la durata della risposta rispetto al trattamento con Nab-Paclitaxel soltanto (PMID: 37364223).

Nell'ambito di una collaborazione internazionale, abbiamo condotto uno studio clinico di fase 3 per valutare l'efficacia e la sicurezza di Mirvetuximab soravtansine-gynx (MIRV) -un anticorpo diretto contro il recettore del folato, approvato negli Stati Uniti per il trattamento del tumore ovarico resistente al platino- rispetto alla chemioterapia, per il trattamento di tumore ovarico di alto grado resistente al platino. Lo studio ha arruolato un totale di 453 pazienti. I nostri risultati hanno mostrato una maggiore sopravvivenza in assenza di progressione,

e sopravvivenza in generale; inoltre, abbiamo osservato una risposta obiettiva in una percentuale significativamente maggiore di pazienti, e sono stati registrati meno eventi avversi nel periodo di trattamento (PMID: 38055253).

Nel contesto di una collaborazione nazionale, nell'ambito dello studio clinico di fase 2, multicentrico, randomizzato MITO END-3, condotto in 31 diversi istituti in Italia, abbiamo valutato l'efficacia dell'aggiunta del trattamento immunoterapico ad una chemioterapia di prima linea per pazienti con tumore dell'endometrio avanzato o recidivo. In particolare, abbiamo confrontato il trattamento con carboplatino e paclitaxel rispetto a avelumab e carboplatin e paclitaxel. I nostri risultati mostrano una migliore sopravvivenza in assenza di progressione di malattia con l'aggiunta di avelumab al trattamento. Inoltre, in pazienti con deficienza del sistema di riparo del danno al DNA (mismatch repair deficient, dMMR), che porta ad un aumento del numero di mutazioni somatiche, il trattamento ha mostrato dei benefici clinici evidenti (PMID: 37052965).

Nel contesto di una collaborazione italiana, abbiamo valutato efficacia e sicurezza di un trattamento con Romidepsin -un inibitore delle deacetilasi istoniche- in combinazione con chemioterapia (CHOP) come trattamento di induzione prima del trapianto di cellule staminali in pazienti con linfoma (peripheral T cell lymphoma). I risultati mostrano che l'aggiunta di romidepsin a CHOEP non migliora la sopravvivenza dei pazienti in assenza di progressione di malattia (PMID: 36653509).

Nell'ambito di uno studio clinico retrospettivo, analizzando i dati di pazienti affetti da tumore polmonare non a piccole cellule, inizialmente non reseccabile, che hanno ricevuto immunoterapia neoadiuvante da sola o in combinazione con chemioterapia e/o radioterapia, abbiamo osservato una remissione completa in 36% dei pazienti, e una remissione significativa in 16% dei pazienti, una sopravvivenza mediana di 19 mesi e recidiva locale in 10% dei pazienti. Il nostro studio indica quindi che il trattamento immunoterapico con o senza chemioterapia può essere considerato per tumori non reseccabili localmente avanzati e la possibilità di un approccio chirurgico può essere riconsiderata in seguito al trattamento di induzione. La sintomatologia e la qualità di vita sono risultate accettabili (PMID: 37668890).

Nel contesto di uno studio "real-world", abbiamo valutato, in 177 pazienti con tumore polmonare non a piccole cellule che presentavano metastasi cerebrali, il profilo di efficacia, e il costo, di un approccio terapeutico che consisteva in terapia sistemica non chemio (ovvero, TKIs o pembrolizumab) come trattamento di prima linea, con o senza radioterapia. Il nostro studio suggerisce che in questi pazienti la radioterapia rappresenta un'opzione di trattamento valida, potenziando l'efficacia di farmaci nuovi ed emergenti, con costi sostenibili per il sistema sanitario (PMID: 36831447).

Nel contesto di uno studio clinico prospettico, multicentrico, di fase 2 -ATLANT-, abbiamo valutato efficacia e sicurezza della terapia combinata con Lanreotide autogel (LAN) e temozolomide (TMZ) per il trattamento di

tumori neuroendocrini toracici, non resecabili, metastatici/localmente avanzati, ben- o moderatamente-differenziati, con progressione rilevata a livello radiologico. I risultati dello studio, che ha arruolato 40 pazienti, indicano una efficacia incoraggiante del trattamento combinato, che risulta anche ben tollerato (PMID: 36044870). Nell'ambito di una collaborazione, nel contesto dello studio clinico METEORA-II, abbiamo confrontato l'efficacia del trattamento metronomico orale (vinorelbine, cyclophosphamide e capecitabine, VEX) rispetto alla chemioterapia somministrata per via endovenosa (paclitaxel) in pazienti con tumore al seno metastatico ER+/ERBB2-. Sebbene non siano state osservate differenze tra i due trattamenti in termini di sopravvivenza, e nonostante la maggiore incidenza di eventi avversi -in ogni caso gestibili-, l'approccio di trattamento metronomico orale è apparso più efficace nel controllo della malattia, in questo gruppo di pazienti, rispetto alla terapia endovenosa con paclitaxel (PMID: 37440239).

L'approccio chirurgico nel trattamento dei tumori.

Nell'ambito di una collaborazione, al fine di identificare fattori prognostici di sopravvivenza ed offrire un quadro informativo completo al paziente per la scelta dell'approccio terapeutico più adatto (terapia sistemica immunoterapica o molecolare), abbiamo descritto l'esito clinico di pazienti che hanno ricevuto resezione chirurgica delle metastasi polmonari di melanoma maligno. Analizzando i dati clinici di 183 pazienti che hanno subito resezione del melanoma primario prima della rimozione chirurgica delle metastasi, abbiamo identificato la crescita verticale del melanoma e il sito primario di metastasi (oltre al polmone) come fattori che influenzavano negativamente la prognosi del paziente. Inoltre, i nostri dati mostrano che la chirurgia rimane un'opzione valida in casi selezionati di melanoma al IV stadio con metastasi resecabili al polmone, sebbene le terapie sistemiche possano essere utili nel prolungare la sopravvivenza del paziente in caso di recidiva (PMID: 37173927).

Al fine di stimare l'effettivo beneficio, in termini prognostici, associato con una terapia adiuvante in pazienti con tumore polmonare non a piccole cellule in stadio IB, a fronte di un rapporto costi/benefici non trascurabile, abbiamo effettuato uno studio retrospettivo in pazienti trattati nel nostro centro negli ultimi 20 anni, valutando sopravvivenza e incidenza di recidiva in seguito a resezione radicale del tumore. I nostri dati mostrano che in questi pazienti, dato il basso rischio di recidiva e la sopravvivenza eccellente a 15 anni, la terapia sistemica dovrebbe essere riservata solo in casi selezionati, ad elevato rischio (PMID: 36902867).

Attraverso uno studio retrospettivo abbiamo valutato l'esito clinico di pazienti con carcinoma neuroendocrino non metastatico della cervice (NECC) trattati con chirurgia e chemioterapia neoadiuvante. L'analisi dei dati di 27 pazienti ha evidenziato che lo stadio del tumore (FIGO stage \geq IIB), la radioterapia adiuvante (external-beam) con o senza brachiterapia, sono fattori prognostici (indipendenti e significativi) di sopravvivenza in assenza di malattia; la brachiterapia è un fattore prognostico anche di sopravvivenza generale. In generale, questo studio

sottolinea che il NECC non metastatico richiede un approccio di trattamento multimodale, sulla base, soprattutto, dello stadio patologico del tumore. L'aggiunta di brachiterapia dovrebbe inoltre essere considerata, soprattutto in pazienti con malattia localmente avanzata (PMID: 37428640).

Sesso e genere nella ricerca clinica.

Abbiamo valutato quanto sesso e genere siano attualmente considerati nella ricerca clinica sui tumori testa-collo. Infatti, diversi studi riportano che sesso –ovvero le differenze biologiche maschio/femmina– e genere –ovvero le differenze associate ai comportamenti sociali uomo/donna– influenzano la salute umana. Ad esempio, il tumore testa-collo è molto più frequente negli uomini che nelle donne. Le ragioni alla base di queste differenze non sono note, ma indicano la necessità di includere queste variabili per un'analisi più accurata e obiettiva dei risultati scientifici e per un approccio adeguato alla cura del paziente. A questo scopo, abbiamo ricercato gli studi clinici sui tumori testa-collo registrati su clinicaltrials.gov – l'archivio di studi clinici riconosciuto da FDA più grande e universalmente accettato– tra il 1999 e il 2022 che consideravano sesso e genere come variabili da analizzare. I nostri risultati sono stati validati analizzando i lavori corrispondenti pubblicati su riviste scientifiche che consideravano sesso o genere nelle loro analisi, fornendo così un'immagine della situazione attuale riguardo all'inclusione di sesso e genere nella ricerca clinica. In particolare, i nostri risultati hanno evidenziato che, nonostante la crescente consapevolezza riguardo all'importanza di considerare le differenze di sesso/genere così come altre variabili biologiche, sesso e genere ad oggi vengono spesso ignorati negli studi clinici sui tumori testa-collo, dove rappresentano, invece, una variabile importante, dato che influenzano in maniera significativa l'incidenza del tumore. Appena il 5% degli studi clinici include sesso/genere tra le variabili da analizzare e ciò avviene più frequentemente negli studi osservazionali su coorti ampie di pazienti (sufficientemente ampie da essere suddivise in sottogruppi) rispetto a studi interventistici e condotti su gruppi più piccoli di pazienti. Il loro lavoro indica fortemente la necessità di uno sforzo ulteriore per aumentare la consapevolezza all'interno della comunità scientifica riguardo all'importanza di una ricerca che consideri sesso e genere, attraverso la raccolta e la diffusione delle sempre più numerose evidenze scientifiche disponibili (PMID: 37679495).

Abbiamo condotto uno studio per testare le differenze legate al sesso in termini di tossicità associata al trattamento con inibitori chinasi nei tumori neuroendocrini gastroenteropatici. Lo studio ha incluso dati di clinical trial di fase 2 e 3, in cui i pazienti sono stati trattati con sunitinib (SU11248, SUN1111), Pazopanib (PAZONET), sorafenib-bevacizumab (GETNE0801), Lenvatinib (TALENT). Lo studio ha evidenziato differenze tra i due sessi in termini di frequenza del manifestarsi di diversi sintomi di tossicità al farmaco (PMID: 37196483).

Meta-analisi

Al fine di valutare se smettere di fumare possa aumentare la sopravvivenza dei pazienti con tumore testa-collo, abbiamo analizzato i dati di sedici articoli pubblicati sull'argomento, includendo oltre 3.000 pazienti con tumore testa-collo (da Nord America, Europa e Asia), e abbiamo effettuato la prima meta-analisi mai fatta sui benefici che smettere di fumare potrebbe avere sulla prognosi di questi pazienti. I nostri risultati hanno mostrato che smettere di fumare è associato con un aumento del 20% nella sopravvivenza dei pazienti. Inoltre, sebbene non statisticamente significativo, è stato osservato un aumento paragonabile, in termini di sopravvivenza, anche per gli altri endpoint considerati (e.g. sopravvivenza in assenza di malattia, progressione, metastasi). Uno degli articoli inclusi nella meta-analisi riportava i dati divisi per sesso, mostrando maggiori benefici per gli uomini che per le donne, sebbene queste differenze potrebbero essere dovute ad un diverso stile di vita o ad altri fattori di rischio non ancora noti (diversi in uomini e donne) che potrebbero interagire con il fumo. Quindi, sebbene siano necessarie conferme definitive tramite la pianificazione di studi ad hoc, i risultati mostrano un'augmentata sopravvivenza dei pazienti che smettono di fumare dopo la diagnosi di tumore testa-collo. In ogni caso, indipendentemente dai risultati, gli effetti positivi che smettere di fumare ha sulla salute giustificano pienamente ad incoraggiare i fumatori a smettere; un counseling dovrebbe essere offerto a tutti i fumatori che iniziano un percorso diagnostico per cancro e dovrebbe essere considerato parte del trattamento oncologico multidisciplinare standard almeno per i pazienti con tumore al polmone o tumore testa-collo (PMID: 35999273).

Nell'esercizio 2023, nell'ambito della Ricerca Clinica, sono stati approvati n. 47 studi osservazionali, n. 90 *trials* relativi a studi di fase I, II, III e IV (n. 86 nel 2022). I *trials* in corso risultano n. 728 (n. 721 nel 2022). I pazienti reclutati in *trial* sono stati n. 71.214 (n. 64.888 nel 2022).

Sono stati inoltre pubblicati n. 863 lavori scientifici (n. 883 nel 2022). I punti di *Impact Factor* sono risultati n. 8.592 (n. 9.416 nel 2022).

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 2023 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 2023, abbiamo continuato a riprogettare la nostra offerta formativa, mettendo sempre di più l'aspetto personale al centro della nostra proposta per affiancare con efficacia tutto ciò che riguarda la sfera tecnica.

Abbiamo garantito:

- a) i corsi di formazione sulle soft skills: tra cui *il pensiero positivo, teamworking, creative thinking, decision making, le neuroscienze*, comunicazione assertiva, resilienza, *conflict management, generare senso di appartenenza e motivazione, 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, aggiornamenti per auditor;

d) la formazione sull'area emergenza-urgenza per i professionisti sanitari a contatto con i pazienti;

e) Speexx: 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;

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, il *primary nursing*, 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 2023 l'offerta formativa rivolta al personale si è articolata in 8 aree tematiche: manageriale e comportamentale, clinica, linguistica, informatica, istituzionale, normativa radioprotezione, normativa sicurezza sul lavoro e emergenza-urgenza.

Abbiamo organizzato 129 corsi, in modalità training on the job, e-learning e aula, di cui 82 accreditati ECM.

In particolare, si evidenziano i 31 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 60 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.

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 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 2023 l'Istituto ha continuato a sostenere le partecipazioni del personale ad iniziative scientifiche nazionali e internazionali per un totale di 848 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 2023 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 proseguito con l'attuazione delle seguenti 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 a trovare nuove risorse interiori
- 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 i momenti di difficoltà.

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.

Nel 2023, il totale delle ore di formazione erogate è stato di 1.628 e il numero complessivo dei medici di medicina generale, specialisti e altri operatori sanitari che hanno partecipato agli eventi è stato n. 348, con un indice medio di soddisfazione degli eventi del 93,4 %.

Il totale complessivo dei crediti ECM erogati ai partecipanti è stato di n. 2.217,6. Sono stati assegnati crediti a tutor e docenti per un totale complessivo di 120 crediti.

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

1. 7° Corso intensivo trattamento fisico dell'edema linfovenoso, 13 marzo-20 maggio 2023
2. Technological innovations in Nuclear Medicine. Moving towards a NEW (Nu)clear Medicine in Oncology - 19 maggio 2023
3. V Corso Mugo, 26-27 Maggio 2023
4. L'Infermiere Case Manager nel percorso clinico-assistenziale del paziente oncologico, 10 giugno 2023
5. I e II giornata della ricerca – 19 maggio e 13 dicembre 2023
6. Esagon Course on Ovarian Cancer Surgery and More, 18-20 ottobre 2023

Nel 2023 ha realizzato: n. 19 eventi di cui 9 accreditati ECM. Il totale delle ore di formazione erogate è stato n. 350 (165 in ECM) e il numero complessivo dei medici di medicina generale, specialisti e altri operatori sanitari che hanno partecipato agli eventi è stato n. 849, di cui n. 313 con crediti con un indice medio di soddisfazione degli eventi del 90,1 %.

Il totale complessivo dei crediti ECM erogati ai partecipanti è stato di n. 3.888,4. Sono stati assegnati crediti a tutor e docenti per un totale complessivo di 579 crediti.

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 pericolosi e non pericolosi vengono raccolti separatamente in appositi contenitori, o convogliati a serbatoi di raccolta, 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 2023 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. In particolare:

AREA EX RATTI:

Nel corso dell'esercizio sono stati mantenuti attivi in modo continuativo sia l'impianto di Soil Vapor Extraction (SVE) predisposto nel 2021 sia quello di P&T, in funzione dall'agosto 2020.

I due impianti costituiscono il sistema di Messa in Sicurezza d'Emergenza (Mise) dell'area.

Per quanto concerne l'iter amministrativo, nel 2023 ci sono stati i seguenti aggiornamenti:

- nel mese di marzo 2023 è stato presentato presso gli Enti Competenti il progetto operativo di bonifica e analisi di rischio sito specifica;
- sempre nel mese di marzo 2023 si è concluso il procedimento di indagine da parte di Città Metropolitana ai sensi degli artt. 244 e 245 c.2 del D.Lgs. 152/06. Tale procedimento ha individuato come "ragionevoli colpevoli" dell'inquinamento i precedenti gestori dell'attività produttiva;
- nel mese di giugno 2023 è stata convocata Conferenza dei Servizi per l'approvazione del progetto operativo di bonifica. L'iter è ancora in corso.

A valle di formale approvazione del progetto, potranno essere dato formale avvio (presumibilmente secondo semestre 2024) all'esecuzione dell'attività di bonifica che si concluderà (presumibilmente nel secondo semestre 2026) a valle di formale collaudo e certificazione.

AREE EX MASCHERPA e EX GOBBI (Park 4)

Con riferimento alla potenziale contaminazione dei terreni di riporto, il progetto di bonifica rientra nell'ambito di una procedura semplificata ai sensi dell'art. 242-bis del D.Lgs. 152/2006.

Per la formalizzazione del progetto era propedeutico il conseguimento dei necessari Titoli autorizzativi (Autorizzazione Paesaggistica da parte del Parco Agricolo Sud Milano e SCIA di demolizione) ai fini della demolizione delle preesistenze (tettoie e alberature), demolizioni necessarie per poter intervenire sui terreni.

Di seguito si riportano gli aggiornamenti dell'iter autorizzativo intervenuti nel corso del 2023:

- nel mese di giugno 2023 è stata conseguita l'Autorizzazione Paesaggistica (richiesta protocollata c/o Parco Agricolo Sud nel mese di dicembre 2022);
- nel mese di novembre 2023 è stata protocollata pratica edilizia (SCIA) relativa sempre per le opere di demolizione propedeutiche all'esecuzione del Progetto Operativo di Bonifica; la pratica è attualmente in fase di istruttoria;
- nel mese di dicembre 2023 è stato formalmente protocollato il Progetto di Bonifica, al momento di fase di verifica da parte del competente settore del Comune di Milano.

È pertanto ipotizzabile che le opere propedeutiche possano essere avviate entro il primo semestre 2024, mentre l'avvio delle attività di bonifica vere e proprie è al momento programmato per il secondo semestre 2024.

Tutte le fasi degli interventi previsti, nei procedimenti sopra descritti, saranno come di consueto 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

Oltre alle consuete attività di mantenimento di tutto il sistema data protection; attività rendicontata in apposito report annuale, le attività di maggior rilievo del 2023 sono state:

- ✓ Miglioramento livelli di sicurezza dell'infrastruttura tecnologica IT per far fronte alle nuove minacce sulla cyber security;
- ✓ Messa in produzione Clinical Data Platform per la gestione e tracciabilità dei data base dei progetti di ricerca osservazionali retrospettivi
- ✓ Introduzione Data Governance Board (DGB) dedicato interamente e specificatamente alla valutazione dei progetti con particolare attenzione ai rischi data protection ed ai suoi risvolti morali.

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 n. 426 sede di IEOOffice e di Via dei Missaglia n. 97 sede dei corsi di laurea in infermieristica e 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 58,3% 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.

Al 26.03.2023 risultano prescritti, ai fini dell'azione accertatrice degli uffici finanziari, gli esercizi fino al 2016 per le imposte dirette e per l'IVA, fatte salve le disposizioni di cui all'art. 43, comma 3, del D.P.R. n. 600 del 1973 e all'art. 57, comma 3, del D.P.R. n. 633 del 1972. Segnaliamo che il termine di decadenza per gli atti di accertamento relativi al periodo di imposta 2017, naturalmente in scadenza per il 31.12.2023, deve intendersi differito di 85 giorni in conseguenza della sospensione dettata dall'art. 67, D.L. n. 18/2000. Il nuovo termine di decadenza risulta essere, pertanto, il 25 marzo 2024.

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 31.12.2023 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 31.12.2023 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.

E' attivo un rapporto di *cash pooling* con la controllata dalla quale vengono canalizzati parte dei flussi finanziari al fine del miglioramento a livello di gruppo degli stessi.

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

	Verso controllate
Debiti per operazioni di Cash Pooling	32.532
Crediti per servizi intragruppo	107
Debiti per servizi infragruppo	221
Costi per prestazioni cliniche	86
Costi per servizi intragruppo	108
Costi per interessi passivi sul Cash Pooling	778
Ricavi per prestazioni cliniche	218
Ricavi per prestazioni di servizi	1.425

Fatti di rilievo intervenuti dopo la chiusura dell'esercizio

L'attività clinica è ripresa in modo significativo da inizio anno, in ambito sia regionale sia extraregionale, con tutte le premesse per positivi risultati durante il 2024.

Il costo di energia e gas ha continuato una lenta discesa stabilizzandosi nel 1° trimestre 2024 su valori di poco inferiori a quelli di fine 2023, comunque superiori a quelli pre crisi. Vari operatori forniscono previsioni di una certa stabilità delle quotazioni nei prossimi trimestri del 2024. L'Istituto ha un contratto per la fornitura di energia e gas a prezzi fissati nel 2023 anche in parte per il 2024 e continua a

monitorare il mercato per valutare le migliori opzioni contrattuali per il resto del 2024. Prosegue comunque l'attivazione di misure di contenimento dei consumi.

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 incerto sotto il profilo economico e non prevedibile sotto quello normativo.

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 tecnologici 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 € 3.685.073 Vi proponiamo di destinare l'utile, come previsto dall'art. 26 dello statuto, alla riserva legale per € 368.507 ed al Fondo ricerca e sviluppo per € 3.316.566.

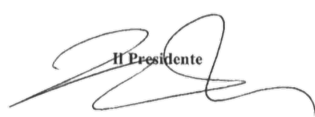
In conclusione, desideriamo altresì manifestare a tutto il personale dell'Istituto il nostro più vivo ringraziamento per l'impegno e la competenza ancora una volta dimostrati nell'espletamento dei propri incarichi e per l'attenzione e l'umanità rivolte nei confronti dei nostri pazienti.

p. il Consiglio di Amministrazione

Stato patrimoniale

Pag. 1/5

		31.12.2023	31.12.2022
		€	€
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	4.760.433	3.430.359
6	Immobilizzazioni in corso e acconti	762.465	659.926
7	Altre	506.007	382.553
<i>Totale immobilizzazioni immateriali</i>		<i>6.028.905</i>	<i>4.472.838</i>
<i>II Materiali</i>			
1	Terreni e fabbricati	28.363.545	23.550.420
2	Impianti e macchinario	14.958.931	10.088.227
3	Attrezzature industriali e commerciali	50.191.174	24.378.807
4	Altri beni	5.580.791	4.244.270
5	Immobilizzazioni in corso e acconti	18.096.653	36.493.500
<i>Totale immobilizzazioni materiali</i>		<i>117.191.094</i>	<i>98.755.224</i>
<i>III Finanziarie</i>			
1	Partecipazioni in:		
	a) Imprese controllate	60.120.966	59.077.671
	b) Imprese collegate	0	0
	c) Imprese controllanti	0	0
	d-bis) Altre imprese	671.724	678.762
	<i>Totale partecipazioni</i>	<i>60.792.690</i>	<i>59.756.433</i>
2	Crediti		
	d-bis) Verso Altri	1.054.067	1.064.182
	<i>Totale crediti</i>	<i>1.054.067</i>	<i>1.064.182</i>
3	Altri titoli		
	<i>Totale altri titoli</i>	<i>9.000.000</i>	<i>0</i>
<i>Totale immobilizzazioni finanziarie</i>		<i>70.846.757</i>	<i>60.820.615</i>
Totale immobilizzazioni		194.066.756	164.048.677

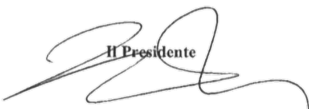


Il Presidente

Stato patrimoniale

Pag. 2/5

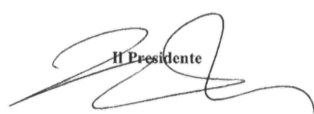
ATTIVO (seguito)		31.12.2023	31.12.2022
		€	€
C) Attivo circolante			
<i>I Rimanenze</i>			
1	Materie prime, sussidiarie e di consumo	9.669.807	8.579.120
<i>Totale rimanenze</i>		9.669.807	8.579.120
<i>I bis</i>	Beni destinati alla vendita	779.700	779.700
<i>II Crediti</i>			
1	Verso clienti	54.787.941	38.140.668
2	Verso imprese controllate	107.029	142.106
3	Verso imprese collegate	0	0
4	Verso controllanti	0	0
5-bis	Crediti tributari	3.844.628	2.045.956
5-ter	Imposte anticipate	2.841.865	2.478.515
5-quater	Verso altri	990.984	979.299
5-quater	Verso altri (oltre l'esercizio)	164.181	9.164.181
<i>Totale crediti</i>		62.736.628	52.950.725
<i>III Attività finanziarie che non costituiscono immobilizzazioni</i>			
6	Altri titoli	29.874.809	0
<i>Totale attività finanziarie che non costituiscono immobilizzazioni</i>		29.874.809	0
<i>IV Disponibilità liquide</i>			
1	Depositi bancari e postali	28.095.673	55.632.349
3	Denaro e valori di cassa	77.746	108.111
<i>Totale disponibilità liquide</i>		28.173.419	55.740.460
Totale attivo circolante		131.234.363	118.050.005
D) Ratei e risconti			
	Ratei attivi	3.021.029	2.774.216
	Risconti attivi	1.786.423	1.584.027
Totale Ratei e risconti		4.807.452	4.358.243
TOTALE ATTIVO		330.108.571	286.456.925


 Il Presidente

Stato patrimoniale

Pag. 3/5

PASSIVO		31.12.2023	31.12.2022
		€	€
A) Patrimonio netto			
I	Capitale	80.579.007	80.579.007
IV	Riserva legale	8.068.792	7.709.624
V	Riserve statutarie: Fondo ricerca e sviluppo	51.428.612	48.196.102
IX	Utile (perdita) dell'esercizio	3.685.073	3.591.678
Totale patrimonio netto		143.761.484	140.076.411
B) Fondi per rischi e oneri			
2	Per imposte differite	519.183	524.586
4	Altri	10.446.012	9.279.170
Totale fondi per rischi e oneri		10.965.195	9.803.756
C) Trattamento fine rapporto di lavoro subordinato		5.188.343	5.370.939
D) Debiti			
7	Debiti verso fornitori	69.715.188	60.372.506
9	Debiti verso imprese controllate	32.753.006	12.637.220
10	Debiti verso imprese collegate	0	0
11	Debiti verso controllanti	0	0
12	Debiti tributari	4.257.629	3.929.381
13	Debiti verso istituti di previdenza e di sicurezza sociale	4.836.944	5.001.725
14	Altri debiti	22.011.390	19.229.502
Totale debiti		133.574.157	101.170.334
E) Ratei e risconti			
	Ratei passivi	45.000	45.792
	Risconti passivi	36.574.392	29.989.693
Totale ratei e risconti		36.619.392	30.035.485
TOTALE PASSIVO		330.108.571	286.456.925

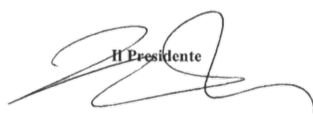


Il Presidente

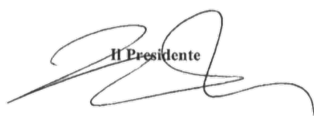
Conto economico

Pag. 4/5

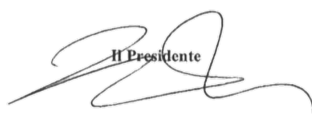
	31.12.2023	31.12.2022
	€	€
A) Valore della produzione		
1 Ricavi delle vendite e delle prestazioni	241.850.760	216.783.979
5 Altri ricavi e proventi:		
- Contributi per programmi di ricerca	26.531.265	26.857.487
- Proventi diversi	22.271.751	20.840.426
	48.803.016	47.697.913
Totale valore della produzione	290.653.776	264.481.892
B) Costi della produzione		
6 Per materie prime, sussidiarie, di consumo e merci	77.777.583	63.091.327
7 Per servizi	63.479.819	58.881.287
8 Per godimento di beni di terzi	6.577.740	6.750.189
9 Per il personale		
a) salari e stipendi	80.895.697	75.439.096
b) oneri sociali	16.988.763	15.969.688
c) trattamento di fine rapporto	4.016.386	4.226.055
e) altri costi	153.705	147.394
	102.054.551	95.782.233
10 Ammortamenti e svalutazioni		
a) ammortamento delle immobilizzazioni immateriali	2.244.737	1.736.567
b) ammortamento delle immobilizzazioni materiali	11.322.354	10.237.221
d) svalutazione dei crediti compresi nell'attivo circolante e delle disponibilità liquide	1.572.234	1.224.729
	15.139.325	13.198.517
11 Variazioni delle rimanenze di materie prime, sussidiarie, di consumo e merci + (-)	(1.519.279)	(168.305)
12 Accantonamenti per rischi	6.403.587	4.977.890
13 Altri accantonamenti	0	0
14 Oneri diversi di gestione	17.534.530	17.647.565
Totale costi della produzione	287.447.856	260.160.703
Differenza tra valore e costi della produzione (A-B)	3.205.920	4.321.189


 Il Presidente

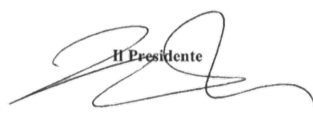
	Conto economico	
	31.12.2023	31.12.2022
	€	€
C) Proventi e oneri finanziari		
15 Proventi da partecipazioni		
- dividendi ed altri da imprese controllate	340.437	0
- dividendi ed altri da altre imprese	0	0
	<u>340.437</u>	<u>0</u>
16 Altri proventi finanziari		
b) da titoli iscritti nelle immobilizzazioni che non costituiscono partecipazioni	242.466	0
c) da titoli iscritti nell'attivo circolante che non costituiscono partecipazioni	689.265	0
d) proventi diversi dai precedenti		
- interessi e commissioni da altri e proventi vari	181.586	33.138
	<u>1.113.317</u>	<u>33.138</u>
17 Interessi ed altri oneri finanziari		
- imprese controllate	777.987	50.045
- altri	151.971	114.313
	<u>929.958</u>	<u>164.358</u>
17bis) Utili e (perdite) sui cambi	<u>(11.831)</u>	<u>34.552</u>
Totale proventi e oneri finanziari + (-)	511.965	(96.668)
D) Rettifiche di valore di attività e passività finanziarie		
18 Rivalutazioni		
a) di partecipazioni	1.043.295	1.009.604
	<u>1.043.295</u>	<u>1.009.604</u>
19 Svalutazioni		
a) di partecipazioni	7.038	5.966
c) di titoli iscritti nell'attivo circolante che non costituiscono partecipazioni	0	0
	<u>7.038</u>	<u>5.966</u>
Totale delle rettifiche + (-)	1.036.257	1.003.638
Risultato prima delle imposte + (-)	4.754.142	5.228.159
20 Imposte sul reddito dell'esercizio, correnti, differite e anticipate		
- Imposte correnti	1.437.822	1.325.958
- Imposte differite, anticipate	(368.753)	310.523
Totale imposte sul reddito es., correnti, differite, anticipate	1.069.069	1.636.481
21 Utile (perdita) dell'esercizio	3.685.073	3.591.678


 Il Presidente

Rendiconto Finanziario	2023	2022
FLUSSI FINANZIARI DERIVANTI DALLA GESTIONE		
A. REDDITUALE		
(metodo indiretto)		
Utile (perdita) dell'esercizio	3.685.073	3.591.678
Imposte sul reddito	1.069.069	1.636.481
Interessi passivi/(interessi attivi)	(171.528)	96.668
(Dividendi)	(340.437)	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	4.242.177	5.324.827
Rettifiche per elementi non monetari che non hanno avuto contropartita nel capitale circolante netto		
Accantonamenti ai fondi	11.992.207	10.428.674
(Ripristini)/perdite di valore delle immobilizzazioni	(1.043.295)	(1.009.604)
Ammortamenti delle immobilizzazioni	13.567.091	11.973.788
Svalutazioni per perdite durevoli di valore	7.038	5.966
2. Flusso finanziario prima delle variazioni del ccn	24.523.041	21.398.824
Variazioni del capitale circolante netto		
Decremento/(incremento) delle rimanenze	(1.090.687)	(168.305)
Decremento/(incremento) dei crediti verso clienti	(16.612.196)	9.936.465
Incremento/(decremento) dei debiti verso fornitori	9.427.250	10.811.231
Decremento/(incremento) ratei e risconti attivi	(449.209)	(186.493)
Incremento/(decremento) ratei e risconti passivi	6.583.907	9.064.203
Altre variazioni del capitale circolante netto	8.712.694	(7.931.126)
3. Flusso finanziario dopo le variazioni del ccn	6.571.759	21.525.975
Altre rettifiche		
Interessi incassati/(pagati)	171.528	(96.668)
(Imposte sul reddito pagate)	0	0
Dividendi incassati	340.437	0
Utilizzo dei fondi	(11.013.364)	(10.132.857)
4. Flusso finanziario dopo le altre rettifiche	(10.501.399)	(10.229.525)
Flusso finanziario della gestione reddituale (A)	24.835.578	38.020.101


 Il Presidente

Rendiconto Finanziario	2023	2022
FLUSSI FINANZIARI DERIVANTI DALL'ATTIVITÀ		
B. D'INVESTIMENTO		
Immobilizzazioni materiali	(29.758.224)	(26.318.095)
(Investimenti)	(29.758.224)	(26.318.095)
Prezzo di realizzo disinvestimenti	0	0
Immobilizzazioni immateriali	(3.800.804)	(2.426.817)
(Investimenti)	(3.800.804)	(2.426.817)
Prezzo di realizzo disinvestimenti	0	0
Immobilizzazioni finanziarie	(9.000.000)	0
(Investimenti)	(9.000.000)	0
Prezzo di realizzo disinvestimenti	0	0
Attività finanziarie non immobilizzate	(29.874.809)	0
(Investimenti)	(29.874.809)	0
Disinvestimenti	0	0
Flusso finanziario dell'attività di investimento (B)	(72.433.837)	(28.744.912)
FLUSSI FINANZIARI DERIVANTI DALL'ATTIVITÀ DI		
C. FINANZIAMENTO		
Mezzi propri	0	0
Cash pooling – controllata	20.031.218	(54)
Dividendi (e acconti su dividendi) pagati		
Flusso finanziario dell'attività di finanziamento (C)	20.031.218	(54)
Incremento (decremento) delle disponibilità liquide (a ± b ± c)	(27.567.041)	9.275.135
Disponibilità liquide al 1 gennaio	55.740.460	46.465.325
Depositi bancari e postali	55.632.349	46.314.110
Denaro e valori di cassa	108.111	151.215
Disponibilità liquide al 31 dicembre	28.173.419	55.740.460
Depositi bancari e postali	28.095.673	55.632.349
Denaro e valori di cassa	77.746	108.111


 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 2023 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.

Fatti di rilievo intervenuti dopo la chiusura dell'esercizio

L'attività clinica è ripresa in modo significativo da inizio anno, in ambito sia regionale sia extraregionale, con tutte le premesse per positivi risultati durante il 2024.

Il costo di energia e gas ha continuato una lenta discesa stabilizzandosi nel 1° trimestre 2024 su valori di poco inferiori a quelli di fine 2023, comunque superiori a quelli pre crisi. Vari operatori forniscono previsioni di una certa stabilità delle quotazioni nei prossimi trimestri del 2024. L'Istituto ha un contratto

per la fornitura di energia e gas a prezzi fissati nel 2023 anche per parte del 2024 e continua a monitorare il mercato per valutare le migliori opzioni contrattuali per il resto del 2024. Prosegue comunque l'attivazione di misure di contenimento dei consumi.

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 miglorie 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 rinviati 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.

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.

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.

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.

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 esposte 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 € 3.685.073, Vi proponiamo di destinare l'utile, come previsto dall'art. 26 dello statuto, alla riserva legale per € 368.507 ed al Fondo ricerca e sviluppo per € 3.316.566.

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 2023.

Dati sull'occupazione

Il numero dei dipendenti al 31 dicembre 2023 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 € 6.028.905 (2022 € 4.472.838)

Descrizione	31.12.2023	31.12.2022
Concessioni, licenze, marchi e diritti simili		
- Licenze d'uso pacchetti applicativi	4.760	3.430
Immobilizzazioni in corso e acconti		
- Immobilizzazioni in corso	763	660
Altre		
- Migliorie su beni di terzi	506	383
Totale Altre	506	383
TOTALI	6.029	4.473

Nel corso dell'esercizio le immobilizzazioni immateriali sono incrementate rispetto allo scorso esercizio per € 1.556 mila; l'ammortamento si attesta ad € 2.245 mila, gli acquisti dell'esercizio sono pari ad € 3.361 mila.

Nel corso dell'esercizio sono stati altresì capitalizzati costi relativi a concessioni, licenze, marchi e diritti simili (€ 2.266 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 2023 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 2023)

	Situazione 31.12.2022			Movimenti dell'esercizio 2023				Situazione 31.12.2023		
	Costo Originario	Fondo Amm.to	Saldo 31.12.22	Incrementi	Decrementi	Riclassifiche	Amm.ti	Costo Originario	Fondo Amm.to	Saldo 31.12.23
Brevetti e utilizzo opere dell'ingegno	2.237	(2.237)	-	-	-	-	-	2.237	(2.237)	-
Concessioni, licenze, marchi e diritti simili	13.657	(10.227)	3.430	2.266	-	1.007	(1.943)	16.930	(12.170)	4.760
Immobilizzazioni in corso e acconti	660	-	660	670	-	(567)	-	763		763
Migliorie su beni di terzi	3.004	(2.621)	383	425	-	-	(302)	3.429	(2.923)	506
	19.558	(15.085)	4.473	3.361	-	440	(2.245)	23.359	(17.330)	6.029

Immobilizzazioni Materiali € 117.191.094 (2022: € 98.755.224)

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%
Proton Terapia	5%

Riepilogo valori di bilancio:

	31.12.2023	Valore netto	31.12.2022	Valore netto
Terreni	9.247		9.247	
Fondo Ammortamento	-		-	
Totale Terreni		9.247		9.247
Fabbricati	48.345		42.194	
Fondo Ammortamento	(29.228)		(27.891)	
Totale Fabbricati		19.117		14.303
Totale Terreni e Fabbricati		28.364		23.550
Impianti e macchinari	38.101		31.319	
Fondo Ammortamento	(23.142)		(21.231)	
Totale Impianti e macchinari		14.959		10.088
Attrezzature industriali e commerciali	146.225		113.908	
Fondo Ammortamento	(96.034)		(89.529)	
Totale Attrezzature industriali e commerciali		50.191		24.379
Altri beni				
. Mobili e arredi	13.172		12.302	
Fondo Ammortamento	(11.016)		(10.720)	
		2.156		1.582
. Macchine d'ufficio	10.729		9.978	
Fondo Ammortamento	(9.038)		(8.420)	
		1.691		1.558
. Impianti elettronici	13.852		12.762	
Fondo Ammortamento	(12.118)		(11.658)	
		1.734		1.104
Totale altri beni		5.581		4.244
Immobilizzazioni in corso e acconti	18.096		36.494	
Totale Immobilizzazioni in corso e acconti		18.096		36.494
TOTALI		117.191		98.755

Nel mese di novembre è stato inaugurato il centro di Proton Terapia che ha comportato capitalizzazioni per € 33,5 Milioni riferibili per € 23,0 alle attrezzature specifiche e per € 11,5 ai fabbricati e impianti. La vita utile del cespite è stimata in 20 anni e l'ammortamento pro quota dell'esercizio è stato calcolato su base mensile..

Nel corso dell'esercizio le immobilizzazioni materiali hanno subito complessivamente un incremento netto pari ad € 18.436 mila, principalmente ascrivibile agli acquisti dell'esercizio pari ad € 30.200 mila e all'ammortamento per € 11.322 mila.

Gli incrementi sono prevalentemente afferenti per € 12.046 mila all'aggiornamento del parco tecnologico, per € 11.486 mila alle immobilizzazioni in corso, per € 4.628 mila ad impianti e macchinari, per € 632 mila ad impianti elettronici, per € 742 mila a macchine d'ufficio, per € 510 mila a mobili e arredi per € 156 mila per Fabbricati.

A fine esercizio, le immobilizzazioni in corso si riferiscono principalmente a cespiti in fase di collaudo ed acconti legati alla realizzazione del progetto di IEO3 (€ 14.479 mila), di IEO4 (€ 1.165 mila), del nuovo reparto di ematoncologia (€ 1.681 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 2023)

	Situazione al 31.12.2022			Movimenti dell'esercizio 2023					Situazione al 31.12.2023		
	Costo originario	Fondo Amm.to	Saldo 31.12.22	Incrementi	Decrementi	Riclassifiche	Realizzi f.do amm.	Amm.ti	Costo originario	Fondo Amm.to	Saldo 31.12.23
Terreni e fabbricati											
• Terreni	9.247	-	9.247	-	-	-	-	-	9.247	-	9.247
• Fabbricati	42.194	(27.891)	14.303	156	-	5.995	-	(1.337)	48.345	(29.228)	19.117
	51.441	(27.891)	23.550	156	-	5.995	-	(1.337)	57.592	(29.228)	28.364
Impianti e macchinari											
• Specifici	13.389	(9.317)	4.072	1.855	-	150	-	(875)	15.394	(10.192)	5.202
• Generici	17.930	(11.914)	6.016	2.773	-	2.004	-	(1.036)	22.707	(12.950)	9.757
	31.319	(21.231)	10.088	4.628	-	2.154	-	(1.911)	38.101	(23.142)	14.959
Attrezzature ind.li e comm.li											
• Specifiche	111.617	(87.863)	23.754	12.038	(197)	20.468	195	(6.539)	143.926	(94.207)	49.719
• Generiche	2.291	(1.666)	625	8	-	-	-	(161)	2.299	(1.827)	472
	113.908	(89.529)	24.379	12.046	(197)	20.468	195	(6.700)	146.225	(96.034)	50.191
Altri beni											
• Mobili e arredi	12.302	(10.720)	1.582	510	-	360	-	(296)	13.172	(11.016)	2.156
• Macchine d'ufficio	9.978	(8.420)	1.558	742	-	9	-	(618)	10.729	(9.038)	1.691
• Impianti elettronici	12.762	(11.658)	1.104	632	-	458	-	(460)	13.852	(12.118)	1.734
	35.042	(30.798)	4.244	1.884	-	827	-	(1.374)	37.753	(32.172)	5.581
Immobilizzazioni in corso e acconti	36.494	-	36.494	11.486	-	(29.884)	-	-	18.096	-	18.096
TOTALE	268.204	(169.449)	98.755	30.200	(197)	(440)	195	(11.322)	297.767	(180.576)	117.191

Il valore dei noleggi è pari ad € 871 mila ed è riconducibile alle seguenti attrezzature:

- attrezzature elettromedicali € 293 mila;
- autovetture € 255 mila;
- fotocopiatrici € 57 mila;
- attrezzature scientifiche € 177 mila;
- altro € 89 mila.

Immobilizzazioni finanziarie

Partecipazioni in controllate	€ 60.120.966	(2022 € 59.077.671)
--------------------------------------	---------------------	----------------------------

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 € 60.121 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. 644 dipendenti (in forza al 31.12.2023) ed è sede di cattedre dell'Università degli Studi di Milano.

Il Centro Cardiologico Monzino S.p.A. ha chiuso l'esercizio 2023 registrando un risultato positivo per € 1,0 milioni (rispetto all'utile del 2022 per € 1,0 milioni) ed un patrimonio netto pari ad € 57,9 milioni (56,9 nel 2022).

Si ricorda che al 31 dicembre 2022 il valore netto contabile della partecipazione risultava essere pari ad € 59,1 milioni, al netto di svalutazioni ripristinabili effettuate in esercizi precedenti per € 10,1 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 € 1,0 milioni, residuando pertanto svalutazioni ripristinabili alla data del 31 dicembre 2023 pari ad ulteriori € 9,1 milioni.

Partecipazioni in altre imprese	€ 671.724	(2022: € 678.762)
--	------------------	--------------------------

La voce include la quota sottoscritta in Genextra S.p.A. pari ad € 633 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).

Titoli	€ 9.000.000	(2022: € -)
---------------	--------------------	--------------------

Come descritto nel paragrafo "Crediti verso altri esigibili oltre l'esercizio", a seguito del trasferimento effettuato secondo quanto concordato col donatore, nel corso dell'esercizio sono stati sottoscritti certificati di deposito di un primario istituto bancario remunerati al 4% scadenti nell'aprile 2025.

Crediti

Crediti verso altri € 1.054.067 (2022: € 1.064.182)

La voce include principalmente, oltre al deposito cauzionale relativo al contratto di affitto per lo IEO Day Centre (€ 975 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 € 9.669.807 (2022 € 8.579.120)

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

	31.12.2023	31.12.2022
Medicinali	6.805	5.344
Presidi sanitari	3.714	3.831
Materiali di consumo	13	29
	10.532	9.204
Fondo obsolescenza	(862)	(625)
TOTALE	9.670	8.579

Il valore delle rimanenze è stato calcolato con il metodo del costo medio ponderato ed include il fondo obsolescenza per un importo totale di € 862 mila, in considerazione della lenta movimentazione di taluni *items*.

Immobilizzazioni destinati alla vendita € 779.700 (2022: € 779.700)

La posta si riferisce al valore di mercato di n. 4 immobili, ricevuti in eredità, destinati alla vendita.

Crediti € 62.736.628 (2022: € 52.950.725)

Tutti i crediti di cui alle poste che seguono hanno scadenza entro i 12 mesi, se non diversamente esplicitato.

Crediti verso clienti € 54.787.941 (2022: € 38.140.668)

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

	31.12.2023	31.12.2022
Crediti esigibili entro l'esercizio successivo		
- fatturati	25.978	24.647
- da fatturare	32.591	16.669
	58.569	41.316
Crediti esigibili oltre l'esercizio successivo	-	-
Fondo Svalutazione Crediti	(3.781)	(3.175)
TOTALE	54.788	38.141

I crediti registrano un incremento complessivo di € 16,6 milioni rispetto allo scorso esercizio riferibili per € 9,2 milioni all'ATS Città Metropolitana di Milano e per € 3,8 milioni ai crediti diversi.

L'aumento relativo ai crediti verso l'ATS Città di Metropolitana di Milano è ascrivibile principalmente al File F.

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 (€ 32.591 mila), si riferiscono principalmente a:

- fatture da emettere relative al file f (€ 7.328 mila);
- fatture da emettere relative a trials clinici (€ 5.794 mila);
- fatture da emettere relative drg (€ 4.621 mila);
- fatture da emettere relative alle maggiorazioni tariffarie 2022 (€ 1.075 mila);
- fatture da emettere relative alle maggiorazioni tariffarie 2023 (€ 1.075 mila);
- fatture da emettere relative alle prestazioni ambulatoriali 2023 (€ 2.612 mila);
- fatture da emettere solventi (€3.722 mila);

- fatture da emettere al Ministero della Salute per progetti di Ricerca Finalizzata ed altri (€ 1.665 mila).

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

	2023	2022
Crediti non afferenti all'ATS:		
Crediti verso clienti solventi	22.829	19.528
Crediti diversi	17.228	13.466
Crediti per rimborsi regionali	0	100
Crediti verso Ministero	1.665	637
TOTALE	41.722	33.731
Crediti verso ATS:		
Crediti per farmaci in file f	7.464	1.957
Crediti verso ATS per DRG e maggiorazioni e funzioni	6.771	2.833
Crediti verso ATS per attività ambulatoriale e screening	2.612	2.795
TOTALE	16.847	7.585
TOTALI	58.569	41.316

Il fondo svalutazione crediti, pari ad € 3.781 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 € 607 mila a fronte di accantonamenti per € 1.572 mila ed utilizzi per € 966 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 2023 a pazienti del SSN sono iscritti in bilancio secondo il valore di presumibile realizzo.

Nel mese di giugno 2023 l'Istituto ha sottoscritto il contratto integrativo con la ATS (in base a quanto previsto dalla D.G.R. n. XI/7758 del 28 dicembre 2022) nel quale è stato assegnato all'Istituto Europeo di Oncologia un *budget* per l'anno 2023 pari ad € 52.437.649 per le attività di ricovero (€ 21.410.629 a

favore dei cittadini residenti in Regione Lombardia), di cui € 1.498.744 legati al raggiungimento di obiettivi specifici per migliorare l'offerta di ricovero e cura, ed un *budget* pari ad € 37.776.772 per le attività di specialistica ambulatoriale e diagnostica strumentale (€ 18.467.999 a favore dei cittadini residenti in Regione Lombardia), di cui € 2.699.810 legati al raggiungimento di obiettivi specifici per l'attività specialistica ambulatoriale. 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 novembre 2023, inoltre, l'Istituto ha firmato una rimodulazione contrattuale per prestazioni di ricovero con la ATS (in ottemperanza alla D.G.R. n. XI/7758 del 28/12/2022), nella quale sono state rimodulate, per € 1.199.803, le quote economiche del tetto previsto per i cittadini fuori regione verso il tetto previsto per i cittadini lombardi portando lo stesso ad € 41.078.431.

In considerazione dei maggiori volumi di prestazioni ambulatoriali erogate nel 2023 rispetto al *budget* assegnato, sono state conseguentemente appostate note credito per € 2.323 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	€	107.029	(2022: €	142.106)
--	----------	----------------	-----------------	-----------------

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	€	3.844.628	(2022: €	2.045.956)
--------------------------	----------	------------------	-----------------	-------------------

La posta include per € 3.516 mila il credito d'imposta per gli investimenti sui nuovi beni (agevolazioni relative ai cd. "*superammortamento*" e "*iperammortamento*"), per € 152 mila il credito IVA, per € 177 mila il credito relativo a ritenute subite.

Crediti per imposte anticipate	€	2.841.865	(2022: €	2.478.515)
---------------------------------------	----------	------------------	-----------------	-------------------

Tale posta accoglie il credito per imposte anticipate calcolato principalmente sui fondi rischi e oneri (cui si fa rimando).

Crediti verso altri € **990.984** (2022: € **979.299**)

Il dettaglio della voce è così composto:

	31.12.2023	31.12.2022
Crediti diversi	856	897
Crediti verso Istituti di Credito	131	66
Crediti per note spese	0	11
Prestiti al personale	4	5
TOTALE	991	979

La posta include per € 637 mila i crediti relativi a eredità ricevute. Risultano altresì iscritti crediti verso un istituto bancario per € 131 mila riferibili ad operazioni contabilizzate nei primi giorni dell'esercizio 2024.

Crediti verso altri esigibili oltre l'esercizio € **164.181** (2022: € **9.164.181**)

La posta accoglie il credito residuo relativo alla Donazione ricevuta dal dott. Braggiotti a copertura della progettazione, realizzazione e allestimento del Breast Cancer Centre all'interno del programma di ampliamento "IEO4". Nel corso dell'esercizio all'Istituto sono stati trasferiti € 9.000 mila e sottoscritti certificati di deposito con scadenza a due anni secondo quanto concordato con il dott. Braggiotti.

Attività finanziarie che non costituiscono immobilizzazioni € **29.874.809** (2022: € **-**)

Altri Titoli € **29.874.809** (2022: € **-**)

La voce si riferisce alle seguenti sottoscrizioni effettuate nell'ambito della gestione prudente della liquidità disponibile secondo le indicazioni del Consiglio di amministrazione:

- ✓ aprile 2023 € 20.682 mila BOT scadenza 12 aprile 2024;
- ✓ novembre 2023 € 5.000 mila BOT scadenza 31 gennaio 2024;
- ✓ novembre 2023 € 5.000 mila BOT scadenza 14 maggio 2024.

Disponibilità liquide	€ 28.173.419 (2022:	€ 55.740.460)
------------------------------	----------------------------	----------------------

Depositi bancari e postali	€ 28.095.673	(2022: € 55.632.349)
-----------------------------------	---------------------	-----------------------------

La voce comprende depositi di c/c bancario per € 28.096 mila remunerati a tassi di mercato. Non sono inclusi investimenti di nessuna natura o fondi vincolati. La variazione rispetto allo scorso esercizio risente è effetto della gestione operativa e alla sottoscrizione dei titoli a breve termine.

Denaro e valori in cassa	€ 77.746	(2022: € 108.111)
---------------------------------	-----------------	--------------------------

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

RATEI E RISCONTI	€ 4.807.452	(2022: € 4.358.243)
-------------------------	--------------------	----------------------------

Ratei attivi	€ 3.021.029	(2022: € 2.774.216)
---------------------	--------------------	----------------------------

La voce accoglie, per € 596 mila gli interessi attivi maturati sui Titoli sottoscritti (€ 536 mila relativa ai Bot ed € 60 mila relativa ai Certificati di Deposito) e non ancora incassati.

La voce si riferisce altresì alla contropartita contabile dei ricavi per contributi alla ricerca assegnati da Fondazione Regionale Ricerca biomedica (€ 524 mila), European Commission (€ 402 mila), Regione Lombardia (€ 384 mila), enti privati (€ 248 mila), AIFA (€ 172 mila), Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro (€ 95 mila), Lega Italiana Lotta contro i Tumori (€ 80 mila), Fondazione Umberto Veronesi (€ 15 mila).

Risconti attivi	€ 1.786.423	(2022: € 1.584.027)
------------------------	--------------------	----------------------------

La voce include i risconti di costi di competenza dell'esercizio 2023 relativi principalmente a premi assicurativi (€ 1.276 mila), canoni di manutenzione (€ 318 mila), cattedre (€ 150 mila), abbonamenti (€ 18 mila) e altri (€ 23 mila).

COMMENTO ALLE VOCI DEL PASSIVO**PATRIMONIO NETTO**

Patrimonio Netto € **143.761.484** (2022: € **140.076.411**)

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

	31.12.2023	31.12.2022
Capitale sociale	80.579.007	80.579.007
Riserva legale	8.068.792	7.709.624
Fondo ricerca e sviluppo	51.428.612	48.196.102
Utile/(Perdita) dell'esercizio	3.685.073	3.591.678
TOTALE	143.761.484	140.076.411

Le variazioni rispetto al 31 dicembre 2023 rivengono dall'esecuzione della delibera assembleare di destinazione del risultato d'esercizio.

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 € **8.068.792** (2022: € **7.709.624**)

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

Fondo Ricerca e Sviluppo € **51.428.612** (2022: € **48.196.102**)

Trattasi di una riserva costituita come previsto dall'art. 26 dello Statuto incrementatasi a seguito della destinazione del risultato dello scorso esercizio per € 3.233 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	8.069	B	-		
Fondo ricerca e sviluppo	51.429	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 € 10.965.195 (2022: € 9.803.756)

Il fondo rischi e oneri comprende per un importo pari ad € 3.928 mila il Fondo Rischi Assicurativi, il Fondo Abbattimento Crediti SSN per € 3.176 mila, il Fondo imposte differite per € 519 mila e il fondo altri rischi per € 3.342 mila.

Il Fondo Abbattimento Crediti SSN include una quota a titolo di rettifica sulla produzione per complessivi € 3.176 mila, di cui € 1.709 mila per le prestazioni ambulatoriali, € 1.002 mila per l'attività di ricovero ed € 465 mila per l'attività di somministrazione di farmaci antiblastici.

Nel corso dell'esercizio 2023, la ATS Città Metropolitana di Milano ha comunicato gli importi riconosciuti relativi alla produzione 2022 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 2022 contabilizzando altresì sopravvenienze per complessivi € 1.589 mila.

Il fondo rischi assicurativi decrementa complessivamente di € 546 mila, a fronte di accantonamenti per € 703 mila e utilizzi per € 1.249 mila che hanno comportato sopravvenienze attive per € 858 mila.

L'incremento della voce Altri Fondi rischi è da riferirsi ad accantonamenti per € 2.525 mila a fronte di utilizzi € 416 mila del fondo rischi per la copertura dei costi di bonifica delle aree prospicienti alla palazzina IEO Office.

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 31.12.2022	Utilizzo	Accantonamento	Saldo al 31.12.2023
Fondo rischi assicurativi	4.474	(1.249)	703	3.928
Fondo abbattimento crediti SSN	3.572	(3.572)	3.176	3.176
Altri fondi rischi	1.233	(416)	2.525	3.342
Fondo imposte differite	525	(6)	-	519
	9.804	(5.243)	6.404	10.965

TRATTAMENTO DI FINE RAPPORTO DI LAVORO SUBORDINATO

Trattamento di fine rapporto di lavoro subordinato € 5.188.343 (2022: € 5.370.939)

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 2022. 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 2023 è pari a n. 1.410 unità ed è così ripartito:

	2023	2022
Altre figure sanitarie	681	676
Amministrativi	379	377
Medici e specializzati	350	322
Totale (di cui n. 7 con qualifica di dirigente)	1.410	1.375

Nel corso del 2023 il Fondo Trattamento di Fine Rapporto si è così movimentato, in migliaia di Euro:

Saldo al 31.12.2022	Accantonamento	Utilizzi	Tfr su retribuzioni differite (*)	Trasferimenti	Anticipi	Saldo al 31.12.2023
5.371	3.972	(1.578)	24	(2.252)	(349)	5.188

(*) 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 (€ 996 mila), al Fondo CAIMOP (€ 790 mila), al fondo Mario Negri (€ 25 mila) ed a fondi aperti (€ 441 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	€	69.715.188	(2022: €	60.372.506)
-------------------------------	----------	-------------------	-----------------	--------------------

La voce rappresenta quanto dovuto ai fornitori per beni e servizi fatturati (€ 44.266 mila) e da fatturare (€ 25.449 mila), relativi ad acquisti di fattori produttivi, attrezzature e prestazioni di servizi.

Debiti verso imprese controllate	€	32.753.006	(2022: €	12.637.220)
---	----------	-------------------	-----------------	--------------------

La posta si riferisce per € 32.532 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	€	4.257.629	(2022: €	3.929.381)
-------------------------	----------	------------------	-----------------	-------------------

I debiti tributari comprendono € 3.348 mila per ritenute sulle retribuzioni del personale dipendente, € 670 mila per IRES, € 38 mila per IRAP, € 114 mila per ritenute su compensi di lavoratori autonomi, € 50 mila per ritenute sulle prestazioni derivanti da collaborazioni coordinate e continuative, € 18 mila per ritenute sulle prestazio

ni derivanti da borsisti e € 20 mila per bollo virtuale.

Debiti verso Istituti di previdenza € 4.836.944 (2022: € 5.001.725)

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	2023	2022
<u>ISTITUTI DI PREVIDENZA</u>		
- INPS e INAIL	3.975	3.712
- CAIMOP	135	259
- ENPAM MEDICI	85	85
- INPS LAVORATORI AUTONOMI	64	68
- Dirigenti	52	27
<u>FONDI T.F.R.</u>		
- Fondo Tesoreria INPS	193	253
- CAIMOP	246	432
- Fondi Diversi	87	166
TOTALE	4.837	5.002

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

Altri debiti 22.011.390 (2022: € 19.229.502)

Tale voce si riferisce principalmente alla libera professione intramoenia (€ 5.518 mila), a debiti per Università LP (€ 3.130 mila), a debiti verso dipendenti per il conguaglio delle retribuzioni del mese di dicembre (€ 2.344 mila), a ferie residue (€ 2.690 mila), a debiti per progetti di ricerca (€ 1.654 mila) a premi di incentivazione (€ 1.793 mila), ad arretrati per rinnovo CCNL (€ 1.299 mila), a MBO/Bonus (€ 618 mila), a welfare aziendale (€ 684 mila), a debiti legati alle eredità (€ 345 mila), ad acconti da clienti (€ 475 mila), a debiti per Università (€ 467 mila), alle refusioni franchigie (€ 293 mila), a debiti per le competenze dei collaboratori progetto (€ 315 mila) e borsisti (€ 196 mila), a quattordicesima mensilità (€ 30 mila).

Di seguito l'evoluzione dei saldi 2022 – 2023 per le voci soggette a conguaglio.

	Saldo iniziale	Importi erogati	Sopravvenienze	Importo maturato	Saldo finale
Libera Professione dipendenti	4.669	(3.540)		4.389	5.518
Ferie Residue	2.286			404	2.690
Premi incentivazione	1.662	(1.501)		1.632	1.793
Arretrati CCNL	1.018			281	1.299
MBO/Bonus	768	(768)		618	618
Quattordicesima	27	(27)		30	30
TOTALE	10.430	(5.836)	0	7.354	11.948

RATEI E RISCONTI € 36.619.392 (2022: € 30.035.485)

Ratei passivi € 45.000 (2022: € 45.792)

Trattasi di importi relativi principalmente a contratti di assicurazioni.

Risconti passivi € 36.574.392 (2022: € 29.989.693)

La posta include i risconti dei contributi in conto capitale, legati alla donazione del dr. Braggiotti al netto della relativa imposta (€ 8.504 mila), dal Ministero della Salute e dalla Fondazione IEO – CCM per

€ 1.515 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	10.722
Credito d'imposta	5.032
Fondazione IEO-CCM	3.559
Fondazione AIRC	2.075
Ministero della Salute	1.821
European Commission	1.091
Imprese Private	916
Altri	765
FUV	471
Ricerca Corrente	103
Totale	26.555

COMMENTO ALLE VOCI DEL CONTO ECONOMICO

VALORE DELLA PRODUZIONE

Valore della produzione € 290.653.776 (2022: € 264.481.892)

Ricavi delle vendite e delle prestazioni € 241.850.760 (2022: € 216.783.979)

	2023	2022
Degenze SSN	52.854	52.617
Prestazioni ambulatoriali SSN	39.665	39.566
Rimborso farmaci SSN	39.250	28.552
Totale ricavi SSN	131.769	120.735
Degenze solventi	50.097	42.762
Prestazioni ambulatoriali solventi	43.583	39.199
Altri ricavi clinici	440	166
Prestazioni cliniche infragruppo	218	154
Totale ricavi solventi	94.338	82.281
Totale attività medico-sanitaria	226.107	203.016
Contributi funzioni ospedaliere	5.912	5.916
Attività di ricerca – trials	9.770	7.799
Attività di formazione	62	52
TOTALE	241.851	216.783

L'incremento dei ricavi e delle vendite delle prestazioni per complessivi € 25,1 milioni (10,4%) rispetto all'esercizio precedente deriva prevalentemente dall'incremento dell'attività medico sanitaria determinato dai seguenti effetti:

- ✓ un incremento significativo dei ricavi solventi pari ad € 12,1 milioni (14,7%);
- ✓ un incremento dei ricavi SSN pari ad € 11,0 milioni (9,1%), principalmente ascrivibili per € 10,7 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 € 0,2 milioni all'incremento delle prestazioni SSN di ricovero.

Si segnala che nella voce "Degenze SSN" è compreso l'importo stimato per le maggiorazioni tariffarie ex DGR n. 350 del 2010 per € 2.688 mila (€ 2.688 mila nel 2022).

Per quanto riguarda i dati di attività, nel corso del 2023 sono stati dimessi n. 17.730 pazienti (n. 16.550 nel 2022) di cui n. 12.090 ordinari (n. 11.840 nel 2022).

Nell'esercizio 2023, n. 13.436 pazienti (n. 12.813 nel 2022) hanno usufruito della convenzione con il Servizio Sanitario Nazionale, mentre i restanti n. 4.294 (n. 3.737 nel 2022) si riferiscono a pazienti solventi.

I ricavi derivanti dall'attività convenzionata si attestano complessivamente ad € 131,8 milioni (€ 120,7 milioni nel 2022) e rappresentano il 58,3% (59,5% nel 2022) del totale dell'attività medico sanitaria.

Nel corso dell'esercizio, si è provveduto a contabilizzare una nota credito da emettere per € 2.323 mila riferibile alle prestazioni ambulatoriali 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 € 3.176 mila, a cui si fa rimando.

La Regione Lombardia ha riconosciuto € 5.912 mila a titolo di rimborso per funzioni non tariffabili (€ 5.916 mila nel 2022).

I ricavi per *trials* clinici (€ 9.770 mila) incrementano di € 1.971 rispetto allo scorso esercizio (€ 7.799 mila).

Altri ricavi e proventi € 48.803.016 (2022: € 47.697.913)

La voce comprende:

	2023	2022
Contributi per programmi di ricerca	17.769	20.879
Contributi Ricerca 5 per mille	8.762	5.978
Totale contributi per programmi di ricerca	26.531	26.857
Recuperi da terzi	11.977	7.718
Sopravvenienze gestionali	7.581	8.733
Contributi Vari	794	2.021
Ricavi infragruppo	1.425	1.440
Contributo in conto capitale	482	528
Plusvalenze alienazione cespiti	13	400
Totale proventi diversi	22.272	20.840
TOTALE	48.803	47.697

Gli altri ricavi e proventi incrementano complessivamente per € 1.106 mila; i contributi per programmi di ricerca decrementano di € 326 mila mentre i ricavi diversi incrementano di € 1.432 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 € 7.521 mila e € 1.206 mila (€ 9.820 mila e € 1.142 mila nel 2022), evidenziando complessivamente un decremento pari al 20,4% rispetto allo scorso esercizio, pari ad € 2.235 mila.

Sono stati confermati i contributi, seppur con importi variabili rispetto ai precedenti esercizi, della Fondazione AIRC per la Ricerca sul Cancro ETS per € 5.091 mila, da parte della Commissione Europea per € 1.024 mila, della Regione Lombardia € 495 mila, della Fondazione Umberto Veronesi per € 495 mila, della Fondazione IEO – CCM per € 170 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 € 482 mila.

Risultano iscritti contributi relativi al contributo 5 per mille sulle dichiarazioni dei redditi relativi diverse campagne per € 8.762 mila come riepilogato nella tabella seguente:

	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	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)														-	4.391	3.300		7.691
Campagna 2021 (redditi 2020)																5.461	2.202	7.663
Campagna 2022 (redditi 2021)																	8.519	8.519
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	5.978	8.761	10.721	108.704

I recuperi da terzi comprendono i riaddebiti di spese per € 6.702 mila, (per € 1.285 mila contributi della Fondazione IEO – CCM), risarcimenti per € 2.525 mila, i ricavi per parcheggi per € 921 mila, addebiti vari ai pazienti per € 102 mila, i ricavi per la ristorazione per € 122 mila, e i ricavi per servizi vari per € 1.604 mila.

I ricavi infragruppo si riferiscono nel 2023 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, inferiori rispetto allo scorso esercizio per € 1.152, sono costituite da maggiori riconoscimenti di ATS Città di Milano e Regione Lombardia a valere sugli scorsi esercizi (per mobilità IRCCS 2021 e 2022 1,7 milioni, per ricorso alta complessità 1,5 milioni, per attività ambulatoriale € 1,0 milioni, drg € 0,7 milioni, funzioni ospedaliere € 0,3 milioni, "File F" € 0,5 milioni), da note credito su costi degli esercizi precedenti (€ 0,4 milioni), da maggiori ricavi derivanti da esercizi precedenti (€ 0,5 milioni), dal rilascio del fondo rischi assicurativi (€ 0,9 milioni).

COSTI DELLA PRODUZIONE

Costi della produzione € 287.447.856 (2022: € 260.160.703)

	2023	2022
Materie prime, sussidiarie, di consumo e merci	77.777.583	63.091.327
Variazione delle rimanenze	(1.519.279)	(168.305)
TOTALE	76.258.304	62.923.022

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

	2023	2022
Medicinali	45.092	33.026
Presidi sanitari	29.128	27.964
Materiali di consumo	778	565
Emocomponenti	1.260	1.368
TOTALE	76.258	62.923

I consumi si sono incrementati per € 13.335 (di cui € 12.006 mila riferibili al consumo di farmaci principalmente legati al file f).

Costi per servizi € 63.479.819 (2022: € 58.881.287)

Comprendono le seguenti voci:

	2023		2022	
Appalti per servizi di:				
. Ristorazione	2.636		2.438	
. Pulizia e disinfestazione	1.866		2.034	
. Gestione stabulario	558		660	
. Smaltimento rifiuti	664		563	
. Lavanderia	487		519	
. Vigilanza	409		424	
. Gas medicali	407		409	
. Trasporto del personale	210		210	
. Servizi Scientifici	199		212	
		7.436		7.469
Consulenze e prestazioni professionali		15.568		15.748
Manutenzioni diverse		13.016		12.464
Convenzioni Universitarie		11.871		11.182
Utenze		5.949		3.773
Borse di studio dirette		2.427		2.135
Assicurazioni		2.150		1.804
Viaggi, riunioni, congressi e formazione		1.563		1.067
Emolumenti agli Organi Sociali		936		936
Altri servizi e collaborazioni d'ufficio		1.056		898
Pubblicità e promozione		655		592
Oneri bancari per carte di credito e altre commissioni		367		312
Prestazioni cliniche intragruppo		194		225
Spese postali		184		173
Trasporti		95		92
Varie		13		8
Documentazione tecnica		-		3
		56.044		51.412
TOTALE		63.480		58.881

I costi per servizi evidenziano, rispetto allo scorso esercizio, un incremento complessivo del 7,8% pari ad € 4.599 mila.

Si evidenziano incrementi relativi alle utenze per € 2.176 mila, alle convenzioni universitarie per € 689 mila, alle manutenzioni per € 552 mila, ai viaggi riunioni e congressi per € 496 mila, alle assicurazioni

per € 346 mila, alle borse di studio per € 292 mila, altri servizi e collaborazioni d'ufficio per € 158 mila, alla ristorazione per € 114 mila e allo smaltimento rifiuti per € 101 mila.

Si evincono decrementi per € 180 mila per le consulenze e prestazioni professionali, per € 169 mila per la pulizia e disinfestazione e per € 102 mila per la gestione dello stabulario.

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 € 67 mila, di cui € 40 mila per la revisione contabile e la sottoscrizione delle dichiarazioni fiscali, € 12 mila per la redazione del Bilancio sociale, € 6 mila per 231, € 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	€ 6.577.740	(2022: € 6.750.189)
---	--------------------	----------------------------

Tali costi sono relativi principalmente a canoni d'affitto IEO Day Centre (€ 3.654 mila), canoni d'affitto per laboratori di ricerca presso il Campus IFOM – IEO (€ 1.776 mila), noleggio elettromedicali (€ 293 mila), noleggio autovetture (€ 255 mila), affitto ambulatori IEO centro (€ 167 mila), altri affitti e noleggi (€ 122 mila), noleggio attrezzature scientifiche (€ 177 mila), noleggi attrezzature d'ufficio (€ 57 mila), affitto Mirasole (€ 50 mila), affitto via dei Missaglia (€ 15 mila), e concessioni (€ 12 mila).

Costo per il personale € 102.054.551 (2022: € 95.782.233)

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

	€ per migliaia		Forza media	
	2023	2022	2023	2022
Retribuzioni e oneri accessori				
. Medici e laureati specializzati sanitari e di ricerca non medici	52.801	47.981	341	312
. Altre figure tecnico sanitarie				
Personale dipendente	31.774	30.556	682	666
. Amministrativi				
Personale dipendente	17.326	17.098	378	377
	101.901	95.635	1.401	1.355
Altri costi del personale	154	147	-	-
TOTALI	102.055	95.782	1.401	1.355

Il costo del personale dipendente incrementa per € 6.273 mila (6,5%).

L'aumento complessivo del costo per il personale è principalmente riferibile per € 4.820 mila (10,0%) all'incremento del costo per i medici, per € 1.218 mila (4,0%) all'incremento nel costo per i sanitari e per € 228 mila (1,3%) all'incremento del costo del personale amministrativo. L'aumento del costo per i medici è ascrivibile per € 2.755 mila ai maggiori riconoscimenti sull'attività libero professionale.

Il costo è comprensivo dell'accantonamento per rinnovi contrattuali pari a € 363 mila (€ 173 mila per altre figure sanitarie, € 114 mila per medici e laureati specializzati, ed € 76 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	€ 2.244.737	(2022 € 1.736.567)
--	--------------------	---------------------------

Ammortamento delle immobilizzazioni materiali	€ 11.322.354	(2022: € 10.237.221)
--	---------------------	-----------------------------

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

€ 1.572.234	(2022: € 1.224.729)
--------------------	----------------------------

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	€ 6.403.587	(2022 € 4.977.890)
----------------------------------	--------------------	---------------------------

La posta include un importo pari ad € 3.176 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 € 2.323 mila, riferibili alle prestazioni ambulatoriali.

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 (€ 703 mila) nonché l'accantonamento con riferimento agli oneri di bonifica delle aree prospicienti la palazzina leo Office (€ 2.525 mila).

Oneri diversi di gestione

€ 17.534.530

(2022: € 17.647.565)

Sono costituiti dalle seguenti voci:

	2023	2022
Sopravvenienze passive e insussistenze dell'attivo	1.063	2.392
Oneri contributo INPS 10%	606	665
Contributo cattedre universitarie	480	419
Libri e giornali	345	320
Quote associative	110	98
Oneri contributo ENPAM	85	85
Altri	-	50
Totale	2.689	4.029
Imposte e tasse:		
. IVA indetraibile (pro-rata)	13.792	12.392
. IMU	642	632
. Tassa smaltimento rifiuti	281	278
. Altre	131	317
Totale	14.846	13.619
TOTALI	17.535	17.648

L'aliquota di indetraibilità dell'IVA si attesta al 78%, evidenziando un decremento di n. 2 punti percentuali rispetto all'esercizio precedente.

PROVENTI E ONERI FINANZIARI

Proventi e oneri finanziari	€ 511.965	(2022: € (96.668))
------------------------------------	------------------	---------------------------

Proventi da partecipazioni	€ 340.437	(2022: € -)
-----------------------------------	------------------	--------------------

La voce considera il dividendo incassato da Genextra.

Altri proventi finanziari da titoli iscritti nelle immobilizzazioni

€ 242.466	(2022: € -)
------------------	--------------------

La voce si riferisce agli interessi maturati sui certificati di deposito sottoscritti nell'esercizio.

Altri proventi finanziari da titoli iscritti nell'attivo circolante

€ 689.265	(2022: € -)
------------------	--------------------

La voce si riferisce agli interessi maturati ai BOT sottoscritti nell'esercizio.

Interessi e commissioni da altri e proventi vari	€ 181.586	(2022: € 33.138)
---	------------------	-------------------------

La voce si riferisce principalmente per € 120 mila agli interessi riconducibili agli interessi attivi maturati sul c/c e per € 60 mila agli interessi maturati su depositi cauzionali.

Interessi e altri oneri finanziari verso controllate	€ 777.987	(2022: € 50.045)
---	------------------	-------------------------

La posta considera gli interessi passivi maturati in seguito all'attivazione del *cash pooling* verso la controllata Centro Cardiologico Monzino SpA.

Interessi e altri oneri finanziari	€ 151.971	(2022: € 114.313)
---	------------------	--------------------------

Sono costituiti principalmente da € 71 mila per oneri su fidejussioni, da € 81 mila da sconti e abbuoni

passivi.

Utili e perdite su cambi	€	(11.831)	(2022: €	34.552)
--------------------------	---	----------	----------	---------

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

RETTIFICHE DI VALORE DI ATTIVITÀ FINANZIARIE

Rivalutazioni partecipazioni	€	1.043.295	(2022: €	1.009.604)
------------------------------	---	-----------	----------	------------

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 2023 della stessa.

Svalutazioni partecipazioni	€	7.038	(2022: €	5.966)
-----------------------------	---	-------	----------	--------

La voce accoglie la parziale svalutazione di valore di Genextra.

IMPOSTE SUL REDDITO DELL'ESERCIZIO CORRENTI, DIFFERITE ED ANTICIPATE

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

Imposte correnti	€	1.437.822	(2022: €	1.325.958)
------------------	---	-----------	----------	------------

Le imposte correnti di competenza dell'esercizio sono relative ad IRAP per € 963 mila e ad IRES per € 754 mila. Tale voce ricomprende inoltre le sopravvenienze attive relative alle imposte riferibili allo scorso esercizio per complessivi € 279 mila.

Si segnala che le perdite riportabili sono state completamente utilizzate e 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 2023			Esercizio 2022		
	Imponibile	Imposta	Aliquota	Imponibile	Imposta	Aliquota
			%			%
IRAP						
Valori teorici	113.236	4.416	3,90%	106.306	4.146	3,90%
Variazione in aumento	21.141	824	0,73%	20.836	813	0,76%
Variazioni in diminuzione	(109.674)	(4.277)	(3,78)%	(103.411)	(4.033)	(3,79)%
Valori effettivi IRAP	24.703	963	0,85%	23.732	926	0,87%
IRES						
Valori teorici	4.754	1.141	24,00%	3.592	862	24,00%
Variazione in aumento	11.005	2.641	55,56%	13.261	3.183	88,61%
Variazioni in diminuzione	(10.978)	(2.635)	(55,42)%	(13.139)	(3.153)	(87,80)%
Valori effettivi IRES	4.781	1.147	24,14%	3.714	891	24,82%
Utilizzo perdite pregresse	0	0	0,0%	(2.362)	(567)	(15,8)%
Deduzione ACE	(405)	(97)	(2,04)%	(372)	(89)	(2,49)%
Totale IRES	4.376	1.050	22,09%	980	235	6,55%
Impatto Ires agevolato	56,50%			58,04%		
	2.472	297	12,00%	569	68	12,00%
Impatto Ires non agevolato	43,50%			41,96%		
	1.904	457	24,00%	411	99	24,00%
Valori effettivi IRES Agevolato	4.376	754	15,85%	980	167	4,65%

(*) I dati di confronto relativi al 2022 sono quelli riportati nella dichiarazione Redditi 2023 (periodo d'imposta 2022)

Imposte differite e anticipate	€	(368.753)	(2022: €	310.523)
---------------------------------------	----------	------------------	-----------------	-----------------

Nella voce Fondi Rischi ed oneri, cui si fa rimando, sono iscritte imposte differite (€ 519 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 (€ 2.841 mila), cui si fa rimando, è stata iscritta tenendo conto della movimentazione dei fondi.

migliaia di euro

Descrizione	Esercizio 2023		
	Imponibile	Imposta	Aliquota Effettiva
			%
IMPOSTE DIFFERITE			
Disavanzo di fusione allocato su fabbricato 1/1/2023 non riconosciuto fiscalmente	2.497	525	21,00%
Ammortamento indeducibile 2023	(26)	(6)	
Disavanzo di fusione allocato su fabbricato 31/12/2022 non riconosciuto fiscalmente	2.471	519	
TOTALE IMPOSTE DIFFERITE	2.471	519	
IMPATTO NETTO IMPOSTE DIFFERITE		(6)	
IMPOSTE ANTICIPATE			
Fondo per rischi ed oneri 1/1/2023	9.279	1.949	21,00%
Utilizzi	(5.237)	(1.101)	
Accantonamenti	6.404	1.345	
Fondo per rischi ed oneri 31/12/2023	10.446	2.193	
Fondo svalutazione Crediti 1/1/2023	1.392	238	17,10%
Utilizzi	(937)	(160)	
Accantonamenti	1.279	219	
Fondo svalutazione Crediti 31/12/2023	1.735	297	
Fondo rischi per adeguamento CCNL 1/1/2023	1.311	275	21,00%
Utilizzi	0	0	
Accantonamenti	363	76	
Fondo rischi per adeguamento CCNL 31/12/2023	1.673	351	
Importo dovuto definizione agevolata (Art. 1, commi da 186 a 202, L. 197/2022) al 1/1/2023	78	16	21,00%
Utilizzi	(78)	(16)	
Importo dovuto definizione agevolata (Art. 1, commi da 186 a 202, L. 197/2022) al 31/12/2023	0	0	
TOTALE IMPOSTE ANTICIPATE	13.854	2.841	
CREDITO IMPOSTE ANTICIPATE		2.841	
IMPATTO NETTO IMPOSTE ANTICIPATE		363	

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 2023.

Fideiussioni a favore di terzi € **9.307.710** (2022: € **9.117.334**)

La composizione è la seguente:

Natura	Beneficiario	Importo
Finanziamento cattedre	Università di Milano	4.246
Contributi per la ricerca	Ministero Istruzione	462
Locazione laboratori di ricerca via Serio	Fabrica Immobiliare	3.945
Bollo Virtuale	Ministero delle Finanze	155
Parco Agricolo Sud MI	Parco Agricolo Sud MI	360
DM 352/22 PNRR	Università Bicocca MI	140
TOTALE		9.308



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 2022	27.07.2023	307.016
	Funzioni 2023	27.01.2023	492.990
		28.02.2023	492.990
		28.03.2023	492.990
		28.04.2023	492.990
		25.05.2023	492.990
		26.06.2023	492.400
		27.07.2023	492.400
		29.08.2023	492.400
		28.09.2023	492.400
		26.10.2023	492.400
		28.11.2023	492.400
		19.12.2023	492.400
Totale ATS Città di Milano			6.218.766
Ministero della Salute	Ricerca Finalizzata	07.06.2023	134.046
		14.09.2023	134.998
		31.10.2023	449.996
	Contributo in conto capitale	31.10.2023	267.308
	5*1000 2022	29.11.2023	8.519.282
	Ricerca Corrente 2023	05.07.2023	3.579.555
18.12.2023		2.857.484	
Totale Ministero della Salute			15.942.669
Totale complessivo			22.161.435



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 31.12.2018	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
Destinazione risultato d'esercizio 2021			221	1.982			(2.203)	
Utile (Perdita) d'esercizio 2022							3.592	3.592
Saldi 31.12.2022	80.579		7.710	48.196			3.592	140.076
Destinazione risultato d'esercizio 2022			359	3.233			(3.592)	
Utile (Perdita) d'esercizio 2023							3.685	3.685
Saldi 31.12.2023	80.579		8.069	51.429			3.685	143.761