

# LE ATTIVITÀ DI AISIWH NEL SETTORE DELLA RICERCA : PASSATO, PRESENTE E FUTURO

Vittorio Rosato  
Direttivo AISIWH



## MODALITA' DI SVILUPPO DELLE ATTIVITA' DI RICERCA

---

- AISIWH collabora con i principali IRCCS e Università proponendo attività di ricerca con una chiara utilità nel settore delle malattie rare e complesse.
- Negli Studi proposti, viene spesso utilizzato un quadro clinico più ampio (i.e. non limitato ai soli pazienti WHS) in quanto le problematiche dei pazienti WHS sono spesso simili a quelle riscontrate in altre classi di Malattie Rare e non solo in quelle (si veda, ad esempio, il caso dell'epilessia)
- La metodologia che viene utilizzata è la seguente
  - Si identifica un'area critica per la Sindrome e per le sue manifestazioni cliniche di rilievo
  - Si identifica un'area scientifica di riferimento (neurologia, urologia, gastro-enterologia etc.) e si valuta la disponibilità di Centri di Eccellenza (Ospedali, IRCCS, Università) a cui proporre una partnership
  - Si identificano sorgenti (pubbliche o private) di cofinanziamento del progetto
  - Si presenta un progetto nei bandi di finanziamento di quelle entità
  - AISIWH cofinanzia una parte delle attività attraverso i propri fondi, dopo delibera del Direttivo, ed il rimanente viene finanziato da qualche ente (pubblico o privato)



# AGENDA

---

## Passato e presente

- Biomarcatori per l'epilessia (Progetto BIOMEPE)
- Una nuovo approccio allo studio della condizione di pazienti di malattie rare con impatto neurologico (Progetto PROMISE)

## Futuro

- Prevalenza e forme di disbiosi intestinali in Malattie Rare e neurologiche (Progetto DISBIOME)
- Biobanca di organoidi WHS (Progetto STEM2ORG)



# BIOMARCATORI PER L'EPILESSIA (PROGETTO BIOMEF)

## Obiettivo

Affiancare alle analisi elettrofisiologiche (EEG) marcatori molecolari in grado di identificare caratteristiche dello stato epilettico per valutazioni longitudinali e della risposta ai farmaci

## Storia

- Iniziato nel 2018 in collaborazione con **Policlinico Gemelli** (valutazione su una popolazione di circa 15 individui di età pediatrica e 5 controlli di 7 biomarcatori miRNA correlanti con lo stato epilettico).
- Identificati 4 marcatori con buone proprietà di correlazione
- Presentazione del Progetto BIOMEF ad un bando di Fondazione UniCredit con cui è stata finanziata la seconda parte delle attività.
- E' stato effettuato un trial clinico in collaborazione con **l'Ospedale Pediatrico Bambino Gesù** su una coorte di 200 (150 pazienti e 50 controlli pediatrici (età < 15 anni)) per verificare la correlazione tra il valore di 4 miRNA nella popolazione con uno studio sia di singolo tempo che longitudinale
- I risultati hanno dato origine ad una richiesta di brevetto [1] e ad una pubblicazione scientifica

[1] Domanda di Brevetto N. EP25184953

"miRNA come biomarcatori della risposta ai farmaci antiepilettici in pazienti affetti da epilessia"

 GENECHRON



Bambino Gesù  
OSPEDALE PEDIATRICO • IRCCS



# BIOMARCATORI PER L'EPILESSIA (PROGETTO BIOMEPI)

Received: 30 October 2025 | Revised: 8 January 2026 | Accepted: 10 February 2026  
DOI: 10.1002/epi.70166

RESEARCH ARTICLE

Epilepsia

## Circulating microRNAs as biomarkers in pediatric epilepsy: A longitudinal cohort study

Licia Salimbene<sup>1</sup> | Mattia Mercier<sup>1,2</sup> | Valentina Spedaletti<sup>3</sup> |  
Angela De Dominicis<sup>4</sup> | Costanza Calabrese<sup>1</sup> | Cristina Filisomi<sup>1</sup> |  
Emanuela Angelucci<sup>5</sup> | Vittorio Rosato<sup>3</sup> | Marco Cappa<sup>4</sup> |  
Federico Vigevaro<sup>5</sup> | Luca de Palma<sup>1</sup> | Marina Trivisano<sup>1</sup> | Nicola Specchio<sup>1,6</sup>

<sup>1</sup>Neurology, Epilepsy, and Movement Disorders, Bambino Gesù Children's Hospital, Scientific Institute for Research and Health Care, full member of European Reference Network EpICARE, Rome, Italy

<sup>2</sup>Department of Physiology, Behavioral Neuroscience PhD Program, Sapienza University, Rome, Italy

<sup>3</sup>Genechron, Rome, Italy

<sup>4</sup>Research Unit Innovative Therapies for Endocrinopathies, Bambino Gesù Children's Hospital, Scientific Institute for Research and Health Care, Rome, Italy

<sup>5</sup>Pediatric Neurorehabilitation, San Raffaele Hospital, Scientific Institute for Research and Health Care, Rome, Italy  
<sup>6</sup>University Hospitals KU Leuven, Leuven, Belgium

**Correspondence**  
Marina Trivisano, Neurology, Epilepsy, and Movement Disorders Unit, Bambino Gesù Children's Hospital, Scientific Institute for Research and Health Care, Piazza Sant'Onofrio, 4, 00165, Rome, Italy.  
Email: marina.trivisano@gpbg.net

**Funding information**  
Ministry of University and Research; National Recovery and Resilience Plan; Italian Ministry of Health with Current Research Funds; UniCredit Foundation; AISIWH ETS OdV (Italian Association of Wolf-Hirschhorn Syndrome)

Licia Salimbene, Mattia Mercier, and Valentina Spedaletti equally contributed to this work.

© 2026 International League Against Epilepsy.

Epilepsia, 2026, 00:1–12.

wileyonlinelibrary.com/journal/epi

### Abstract

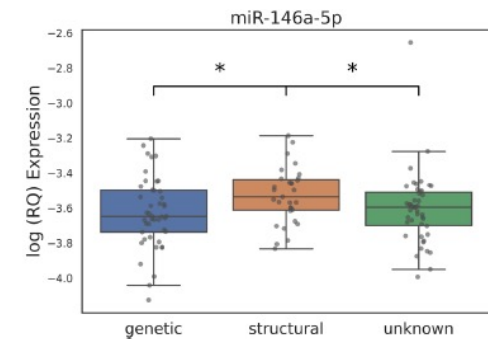
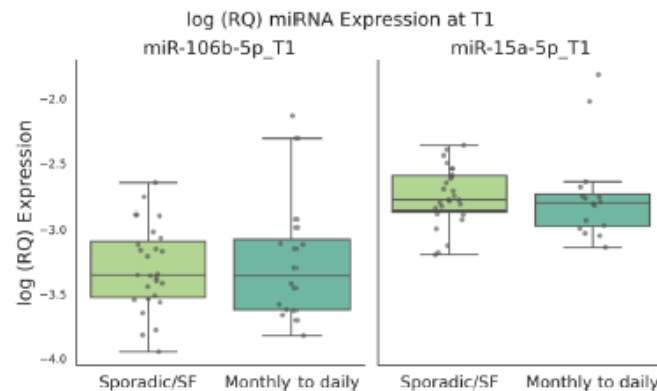
**Objective:** Epilepsy is the most common chronic neurological disorder in children, and approximately one third of patients develop drug-resistant seizures. Reliable biomarkers are needed to improve diagnosis, prognostic assessment, and treatment monitoring. This study evaluated four circulating microRNAs—miR-15a-5p, miR-106b-5p, miR-146a-5p, and miR-152-3p—as potential diagnostic and prognostic biomarkers in pediatric epilepsy.

**Methods:** A total of 122 pediatric patients with epilepsy and 29 age- and sex-matched healthy controls were prospectively enrolled at Bambino Gesù Children's Hospital (Rome) between 2022 and 2025. Clinical variables included epilepsy type, etiology, seizure frequency, electroencephalography, magnetic resonance imaging, and comorbidities. Serum miRNAs were measured by reverse transcription quantitative polymerase chain reaction and normalized using the  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  method, accounting for hemolysis. Nonparametric tests (Mann-Whitney, Kruskal-Wallis, Wilcoxon) were used for comparisons. Forty-three patients were reevaluated after  $\geq 12$  months to assess longitudinal expression.

**Results:** All four miRNAs were significantly upregulated in children with epilepsy compared to controls ( $p < .05$ ). miR-146a-5p expression differed among etiological groups, being higher in structural compared with genetic or unknown etiologies ( $p = .014$ ). Both miR-15a-5p and miR-106b-5p correlated with seizure frequency, showing greater expression in patients with monthly-to-daily seizures than in those with sporadic seizures or seizure-free patterns ( $p = .004$  and  $p = .017$ ). No association was found with antiseizure medications, intellectual disability, or psychiatric comorbidities. Longitudinal analysis showed a significant increase in miR-15a-5p and miR-106b-5p at follow-up ( $p < .01$ ), independent of clinical outcome, whereas miR-146a-5p remained stable over time. These findings suggest that miR-15a-5p and miR-106b-5p reflect ongoing epileptic activity,

## Risultati

miR-146a-5p è un marcatore legato all'eziologia del problema epilettico  
miR-106b-5p e miR-15a-5p correlano con la frequenza delle crisi e la risposta ai farmaci



GENECHRON



Bambino Gesù  
OSPEDALE PEDIATRICO • IRCCS



# DIAGNOSTICA DI MALATTIE RARE CON IMPATTO NEUROLOGICO (PROGETTO PROMISE)

## Obiettivi

Valutare l'impatto di analisi genomiche estese per diagnosi di problematiche cliniche che esordiscono con problematiche neurologiche (come l'epilessia).  
Proporre l'inserimento di tali approfondimenti diagnostici nei LEA dei malati rari

## Dati

Le potenzialità delle analisi estese di **Genomica** (WES) e di **Trascrittomica** (RNAseq) consentono di effettuare una scansione ampia e valutare la presenza di ulteriori polimorfismi e problematiche della regolazione genica coinvolte in casistiche complesse come le malattie rare.

I pazienti sindromici spesso sono caratterizzati dalla sola identificazione della problematica genetica principale (i.e. direttamente associata alla sindrome) ma non da eventuali polimorfismi secondari (a cui tutti gli individui sono esposti). Tali ulteriori condizioni patologiche (o di predisposizione) possono avere impatti molto rilevanti in pazienti con situazioni cliniche già complesse.

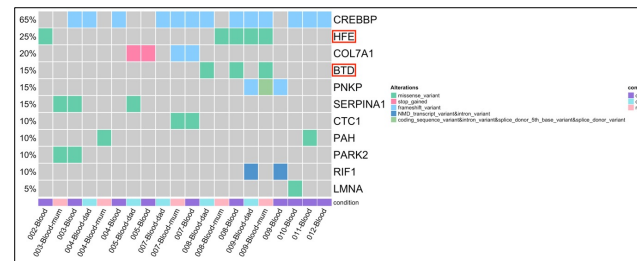
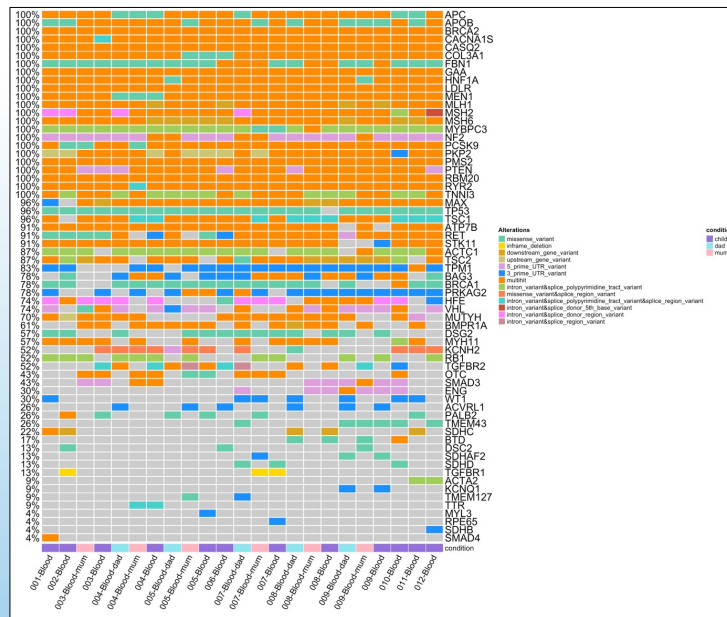
# DIAGNOSTICA DI MALATTIE RARE CON IMPATTO NEUROLOGICO (PROGETTO PROMISE)

## Proposta del Progetto PROMISE

- (1) Una analisi WES (Whole Exome Sequencing) in grado di completare la valutazione genetica del paziente.
- (2) Analisi di due classi di biomarcatori (marcatori enzimatici, i.e. proteici, e biomolecolari, i.e. di acidi nucleici) in grado di fornire, in modalità di raccolta mini-invasiva (da analisi del sangue), informazioni che possano consentire un monitoraggio longitudinale fortemente correlato al quadro epilettico.
- (3) Nei casi a maggiore complessità, la creazione, l'utilizzo e la conservazione di Organoidi di tessuto cerebrale, realizzati a partire da iPSC (cellule staminali pluripotenti indotte) in grado di rendere disponibile un "laboratorio ex vivo" del tessuto cerebrale del paziente, da utilizzare per approfondimenti diagnostici e per effettuare test di protocolli terapeutici personalizzati.

# DIAGNOSTICA DI MALATTIE RARE CON IMPATTO NEUROLOGICO (PROGETTO PROMISE)

## Risultati del Progetto PROMISE: analisi WES



12%

L'analisi ha consentito di valutare la copresenza, nei pazienti analizzati, di numerosi ulteriori polimorfismi. In alcuni casi, questi sono riconducibili a polimorfismi descritti dal ACMG (College of Medical Genetics and Genomics degli USA) che, se rilevati come «secondary findings» devono necessariamente essere comunicati alle famiglie

# DIAGNOSTICA DI MALATTIE RARE CON IMPATTO NEUROLOGICO (PROGETTO PROMISE)

## Risultati del Progetto PROMISE: Organoidi

**a. Rilevanza genetica e personalizzazione** Ogni organoide mantiene il **genotipo del paziente**: quindi riflette mutazioni e varianti realmente associate alla sindrome (es. *SCN1A* in Dravet, *CDKL5*, *DEPDC5*, *ARX*, ecc.). Si possono anche generare organoidi “isogenici corretti” tramite CRISPR, per confrontare effetto della mutazione e risposta farmacologica.

**b. Architettura e connettività tridimensionale** Rispetto a culture 2D, mostrano reti **auto-organizzate**, neuroni eccitatori/inibitori, sinapsi e oscillazioni spontanee (bursting, sincronizzazioni epilettiformi). Questo permette di valutare **effetti elettrofisiologici e sinaptici dei farmaci**, non solo la sopravvivenza o l'espressione genica.

**c. Accessibilità sperimentale** Consentono test ripetuti di molecole note e nuove a concentrazioni controllate, osservando *in vitro* l'effetto su **frequenza e ampiezza degli eventi epilettiformi**, parametri MEA o calcio-imaging.

# DIAGNOSTICA DI MALATTIE RARE CON IMPATTO NEUROLOGICO (PROGETTO PROMISE)

## Risultati del Progetto PROMISE: Organoidi

**d. Riduzione dei modelli animali** Sostituiscono parzialmente animali transgenici, con migliore **traslazionalià umana** (specie per geni e canali ionici con differenze funzionali tra uomo e roditore).

**e. Possibilità di modellare sindromi complesse** In sindromi con **coinvolgimento neuro-sviluppativo** (es. West, Lennox-Gastaut, Rett, Dravet), gli organoidi permettono di seguire **sviluppo, migrazione e maturazione neuronale**, aspetti non accessibili in tessuti adulti.

# DIAGNOSTICA DI MALATTIE RARE CON IMPATTO NEUROLOGICO (PROGETTO PROMISE)

## Risultati del Progetto PROMISE: Organoidi

Gli organoidi isogenici corretti (OIC) sono organoidi “gemelli” di quelli utilizzati a partire dalle iPSC di un paziente rimuovendo il polimorfismo, ad esempio, legato alla genesi dell’epilessia.. Si possono avere dunque, sotto analisi, due organoidi gemelli:

- uno derivato da **iPSC del paziente con la mutazione patologica**;
- uno derivato da **iPSC isogeniche corrette**, dove la mutazione è stata rimossa.

Questi due organoidi:

- sono **geneticamente identici**, eccetto per quella mutazione;
- si sviluppano nelle **stesse condizioni** in vitro;
- consentono un confronto **diretto** degli effetti causati dalla mutazione (o della risposta ai farmaci).

Gli OIC dunque eliminano la variabilità genetica tra individui (che può influire sul fenotipo neuronale e sulla risposta ai farmaci) consentendo di poter attribuire una differenza tra l’organoide mutato e quello corretto, **con alta confidenza, al polimorfismo**. Inoltre, gli OIC consentono di vedere se un farmaco “normalizza” un fenotipo solo nell’organoide mutato ma non altera quello corretto → evidenza di efficacia specifica.

# FUTURO



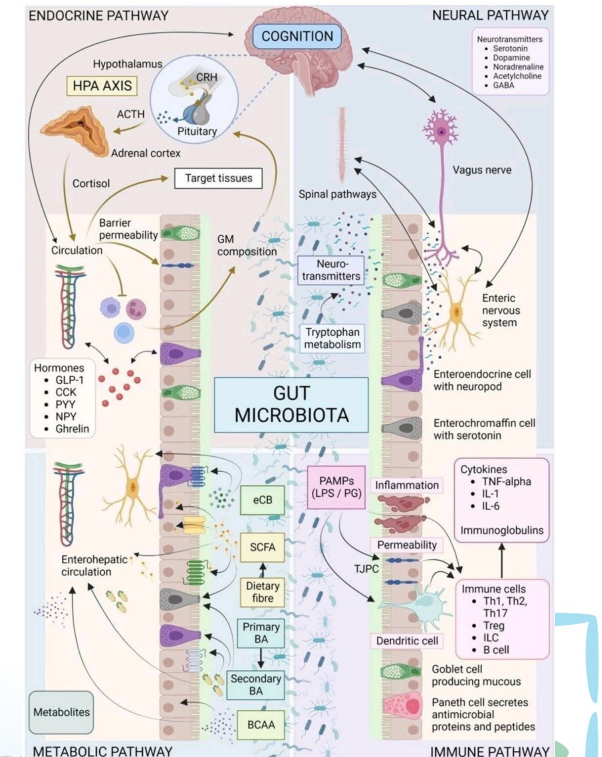
# DISBIOSI INTESTINALI NELLE MALATTIE RARE (PROGETTO DISBIOME 2026-2027)

## Obiettivo

Realizzazione di uno Studio Clinico per la valutazione della **prevalenza** di disbiosi intestinali in pazienti pediatrici affetti da malattie rare e da disturbi della sfera neurologica e delle forme con le quali questa si manifesta nelle varie popolazioni di pazienti.

La salute del microbiota intestinale (eubiosi) è, da qualche tempo, considerata un fattore rilevante per l'equilibrio globale della salute di un individuo, in particolare di quelli con complesse problematiche prodotte da malattie rare o neurologiche.

La metagenomica è in grado di analizzare il DNA di tutte le popolazioni (batteriche, virali e fungine) presenti nelle feci e determinare la composizione del microbiota e individuare eventuali squilibri, fornendo indicazioni utili per ripristinarne l'equilibrio.



# DISBIOSI INTESTINALI NELLE MALATTIE RARE (PROGETTO DISBIOME 2026-2027)

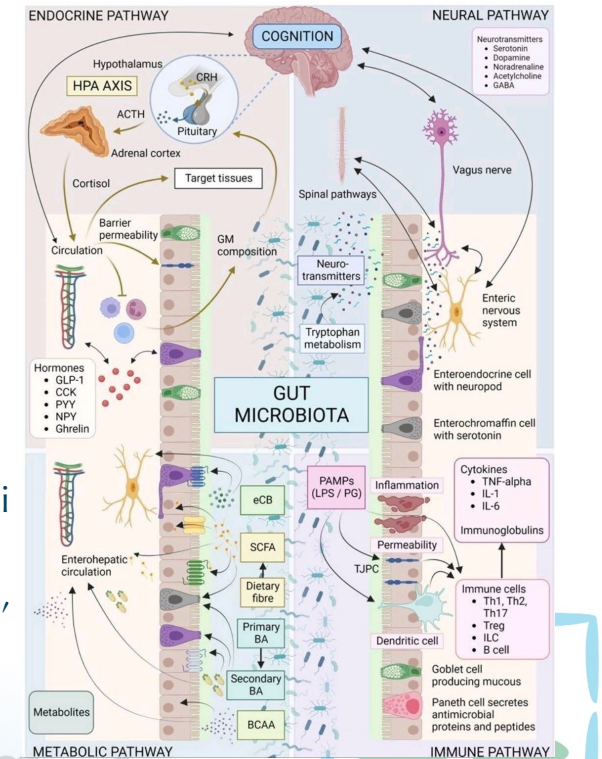
## Studio Clinico

Verrà realizzato uno Studio Clinico su 400 pazienti, stratificati in funzione della tipologia di problematica (genetica, neurologica, traumatica) e della tipologia di *drivers* di rischio

- difficoltà di movimento (i.e paraplegie)
- assunzione di farmaci (i.e. antiepilettici)
- disturbi alimentari e del comportamento

I risultati attesi riguardano

- La valutazione della prevalenza di disbiosi intestinali in queste classi di pazienti
- Identificazione delle forme nelle quali le disbiosi si manifestano
- Studio delle migliori modalità di ripristino della eubiosi (integratori, stili di vita, alimentazione) in funzione delle modalità con cui le disbiosi si manifestano, producendo un Vademecum di Supporto



# BIOBANCA DI ORGANOIDI WHS (INSERITO NEL PROGETTO STEM2ORG 2027-2029)

## Obiettivo

Realizzazione di una biobanca con organoidi di linee cellulari WHS prodotte da iPSC (cellule staminali pluripotenti indotte) e modificate attraverso Gene Editing CRISPR Cas9

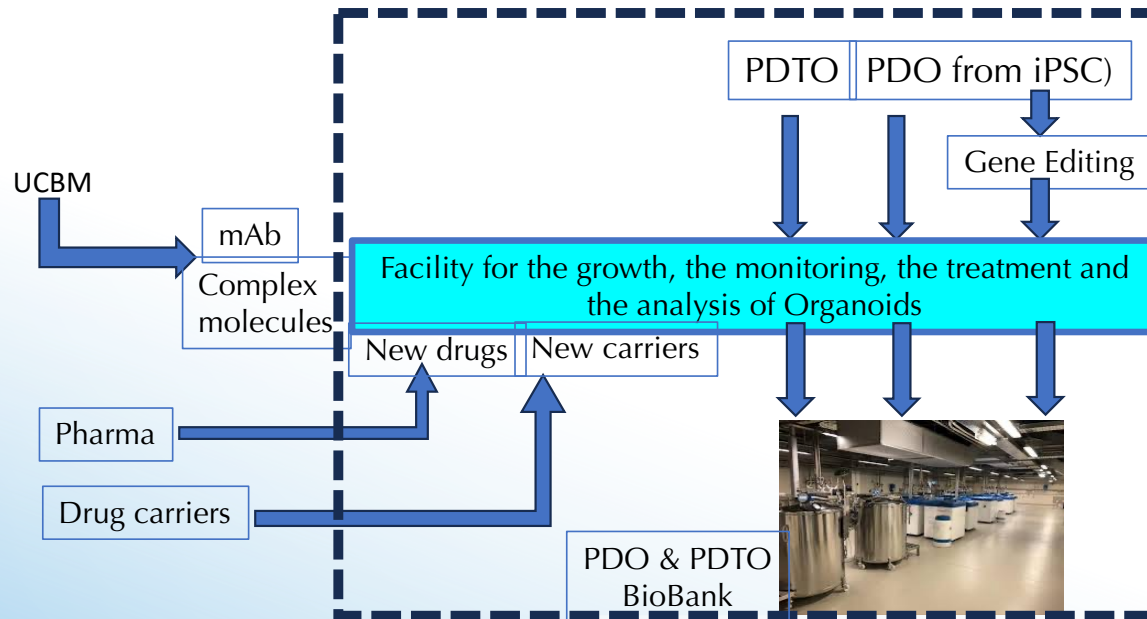
Le linee di organoidi potranno essere utilizzate e analizzate in una Facility che Genechron Srl, l'Istituto Tumori Regina Elena, l'Università Campus Bio Medico di Roma realizzeranno a Roma presso la sede della azienda Genechron Srl attraverso un progetto co-finanziato dalla Regione Lazio.

La Facility (denominata Thybris Organoids) consentirà sia la valutazione di strategie terapeutiche ottimali per pazienti oncologici complessi, sia costituirà un laboratorio per la Validazione preclinica di nuovi strumenti terapeutici (per farmaceutiche e aziende operanti nel settore dei *drug carriers*).

Dall'analisi di PDO (Organoidi derivati da Tumori) si passerà alla produzione di organoidi da iPSC creando Organoidi Isogenici *Modificati* per riprodurre sia malattie monogeniche che plurigeniche



# BIOBANCA DI ORGANOIDI WHS (INSERITO NEL PROGETTO STEM2ORG)



# CONCLUSIONI

- Il compito di una Associazione è quello di sollecitare la ricerca ad intervenire in ambiti che rischiano (spesso) di non essere sufficientemente esplorati dalla ricerca medica.
- AISIWH aderisce dal 2023, alla comunità delle **Associazioni in Rete di Telethon**. Telethon è la principale istituzione nazionale che si occupa di Medicina per le Malattie Rare ed è un punto di riferimento sia metodologico che scientifico per tutte le associazioni.
- AISIWH continuerà ad occuparsi di Ricerca cercando il più possibile di intercettare i bisogni dei pazienti e delle loro famiglie.
- La formula del co-finanziamento è importante: AISIWH cerca di trovare partner «finanziari» che le consentano di investire una quantità di risorse economiche appropriate per la realizzazione di questi Studi.
- Il Direttivo è aperto ad accogliere suggerimenti per indirizzare le attività di Ricerca in specifiche direzioni di rilievo per la WHS



**GRAZIE PER L'ATTENZIONE**

**[v.rosato@genechron.com](mailto:v.rosato@genechron.com)**

