



**FONDAZIONE BEPPE E NUCCY
ANGIOLINI ONLUS**

BILANCIO SOCIALE 2021

***A sostegno della ricerca delle malattie del
tessuto osteo-muscolare***

FONDAZIONE BEPPE E NUCCY ANGIOLINI ONLUS

Sede legale: 20121 Milano - Via Agnello 19

Codice Fiscale: 97795610159 - Codice Destinatario: SUBM70N

Registrata presso Prefettura di Milano N. 1594, pagina 6136, volume 7°

Registrata Anagrafe Unica Onlus art. 10, C1, lett A, D.Lgs 460/1997, in data 7/11/2017

IBAN IntesaSanPaolo: IT98K 03069 096061 00000 154885

Patrimonio netto Euro 100.000,

Lettera dei Fondatori



La Fondazione Beppe e Nuccy Angiolini ONLUS muove i primi passi verso la fine del 2017 dalla nostra volontà di poter ritornare alla comunità parte del successo che dalla vita abbiamo avuto.

Occorreva pertanto una iniziativa che potesse rendere tutto questo possibile e a tal fine abbiamo ritenuto che il nostro finanziamento alla ricerca scientifica in ambito medico potesse essere la scelta più appropriata.

Decidemmo così di identificare quelle Istituzioni in grado sviluppare questo progetto finanziandole nei limiti delle nostre possibilità. L'incontro casuale prima con il Prof. Silvio Garattini durante una cena di beneficenza e successivamente con il Prof. Alberto Mantovani, presentatoci tramite una amica ci hanno fatto comprendere di avere scelto le Istituzioni con le quali proseguire nei prossimi anni con questi progetti. Gli incontri con questi illustri scienziati ci hanno permesso di identificare una area della ricerca scientifica in cui ritenevamo di poter dare un contributo fattivo assumendoci la responsabilità giuridica ed economica.

Da parte mia, come moglie, che ha vissuto in questi anni le conseguenze di una infezione al tessuto osseo avuta da mio marito a seguito di un grave incidente con un mezzo agricolo di molti anni

prima, ho subito condiviso questa iniziativa indirizzando la Fondazione ad investire specificatamente nelle ricerche nel settore delle malattie del tessuto osteo-muscolare, come suggerito dallo stesso Prof. Garattini. Vorrei che la Fondazione potesse dare un contributo alla comunità nell'affrontare alcuni aspetti legati alle esigenze di pazienti affetti da particolari tipologie ossee, come infezioni e metastasi, cercando in questo modo di favorire lo sviluppo di nuove idee e nuove risposte alla medicina attuale.

Così all'inizio del 2019 iniziammo due progetti triennali di ricerca e precisamente del progetto "Role of the long pentraxin PTF3 in osteomyelitis" presso la Fondazione Humanitas per la Ricerca e del progetto Development of new therapies for tumors that metastatize the bone" presso l'Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri con la individuazione dei candidati responsabili di tali progetti.

Oggi al termine di questo primo periodo proseguiremo, dal gennaio 2022, con una estensione dei progetti stessi per un ulteriore triennio: presso l'Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri con il progetto "novel therapeutic strategies targeting the tumor microenvironment of bone metastases" e presso la Fondazione Humanitas per la Ricerca "Diagnostic and therapeutic potential of the long pentraxin PTX3 in bacterial infections of the bone".

Siamo entrambi orgogliosi della decisione presa nel 2017 di creare questa Fondazione per il finanziamento alla ricerca scientifica in medicina e siamo certi di poter proseguire negli anni questa iniziativa.

Bilancio Sociale 2021

Il Bilancio Sociale è lo strumento con il quale intendiamo rendere conto del nostro operato ai portatori di interesse, rendendo trasparenti e comprensibili all'interno e all'esterno dei progetti, le attività ed i risultati raggiunti nelle ricerche che abbiamo finanziato.

E' stato predisposto secondo le linee guida indicate nel Decreto 4 luglio 2019 *"Adozione delle Linee guida per la redazione del bilancio"*

sociale degli enti del Terzo Settore". Ha lo scopo di "offrire una informativa strutturata e puntuale a tutti i soggetti interessati non ottenibile a mezzo della sola informazione economica contenuta nel bilancio di esercizio".

Questo Bilancio Sociale, nel quarto anno della Fondazione, rappresenta il bilancio di un anno intero dei progetti in corso: il 2021.

La Fondazione Beppe e Nuccy Angiolini ONLUS

La Fondazione si è costituita in data 19 Ottobre 2017, con Atto Notaio Gianfranco Benetti, Notaio in Rozzano dai Signori Giuseppe Angiolini e Giuseppina Sala, denominata *Fondazione Beppe e Nuccy Angiolini ONLUS* e avente natura non lucrativa di utilità sociale, con sede in Milano in Via Agnello 19 ed è stata iscritta nel Registro delle persone Giuridiche della Prefettura di Milano al numero d'ordine 1594 della pagina 6136 del volume 7°.

In data 7 novembre 2017 è stata registrata nell'Anagrafe Unica Onlus, art. 10, C1, lettera A, D.Lgs. 460/1997.

In data 15 ottobre 2020 con Atto Notaio Roberto Bossi, Notaio in Milano sono state apportate alcune modifiche allo Statuto al fine di renderlo rispondente ai requisiti richiesti

dalla nuova normativa in tema di Enti del Terzo Settore (ETS). Il nuovo Statuto sarà operativo dopo la creazione del Registro Unico Nazionale del terzo Settore (RUNTS) e la successiva iscrizione della Fondazione.

La Fondazione possiede i requisiti di legge per consentire la deducibilità delle erogazioni liberali ricevute dalle persone fisiche e dagli enti soggetti all'imposta sui redditi (IRES) per un ammontare pari al minore tra i due seguenti limiti: 10% del reddito imponibile ed Euro 70 mila (Art. 14 D.L. 35/2005 convertito con Legge n. 80 del 14/05/2005 e DPCM 12/10/2016). L'art. 1 c. 353 della L. 266/2005 e il DPCM 31/10/2015 consentono inoltre alle società e agli enti soggetti passivi IRES l'integrale deducibilità dal reddito dei fondi trasferiti a titolo di contributo o liberalità.

Missione e identità della Fondazione

Crediamo che ognuno di noi ha il dovere, secondo le proprie possibilità, di contribuire ad uno sviluppo solidale e armonico della collettività e degli uomini e delle donne che la compongono. Infatti questo è sancito all'art. 1 dello Statuto della Fondazione che precisa che: *la Fondazione è Ente filantropico del terzo settore, non ha scopo di lucro, né diretto, né indiretto, non può distribuire utili, ed esercita in via esclusiva attività di interesse*

generale per l'esclusivo perseguimento di finalità civiche, solidaristiche e di utilità e solidarietà sociale.

Specifica inoltre che:

Lo scopo della Fondazione è di interesse generale e cioè di sviluppare la ricerca scientifica, di particolare interesse sociale nel campo delle malattie infettive, dei meccanismi di resistenza e di patologia ad esse relati, principalmente la nicchia costituita dal tessuto osteo-muscolare.

Le attività istituzionali della Fondazione sono:

- L'erogazione di denaro, beni e servizi a sostegno della beneficenza indiretta nel rispetto di quanto previsto all'art. 10 comma 2 bis del D. Lgs. 460/1997, indirizzata ad attività di ricerca.
- Il finanziamento dei progetti di ricerca.

La beneficenza indiretta e i finanziamenti dei progetti di ricerca saranno indirizzati e svolti principalmente, dalla Fondazione Humanitas per la Ricerca/Humanitas University o presso l'Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri.

La Fondazione ha il divieto di svolgere attività diverse da quelle istituzionali ad eccezione di quelle ad esse direttamente connesse perché secondarie e strumentali, quali ad esempio:

- a) promuovere ed organizzare incontri, workshop, convegni e pubblicazioni, iniziative ed eventi promozionali e tutte quelle iniziative idonee a favorire un organico contatto tra la Fondazione, le Istituzioni, il sistema di comunicazione e dei media, nazionale ed internazionale, e più in generale verso tutte le componenti della società;*
- b) svolgere, con l'osservanza delle modalità di legge, attività di raccolta fondi e finanziamenti, e l'attività di raccolta pubblica di fondi, sia direttamente sia attraverso altri enti utilizzando gli strumenti più idonei per il sostegno delle proprie iniziative;*
- c) partecipare ad associazioni, fondazioni ed enti ed istituzioni pubbliche e private, la cui attività sia rivolta, direttamente o indirettamente, al perseguimento di scopi analoghi a quelli della Fondazione medesima;*
- d) stipulare ogni opportuno atto o contratto e convenzioni di qualsiasi genere con enti pubblici e privati, per il raggiungimento degli scopi della Fondazione.*
- e) emettere borse di studio, nel rispetto delle disposizioni"*

Gli Organi sociali della Fondazione

L'attuale Consiglio di Amministrazione della Fondazione è stato nominato alla data di costituzione della stessa e resta in carica a tempo indeterminato. Gli Organi Sociali della Fondazione alla data di approvazione del presente Bilancio sono:

Il Consiglio di Amministrazione, composto da:

Giuseppe Angiolini, Presidente
Alessandra Faraone, Vice Presidente
Giuseppina (Nuccy) Sala, Amministratore

Il Revisore Legale:

Paolo Gullotta.

Patrimonio della Fondazione

Il **patrimonio della Fondazione** è costituito:

- a. dai beni destinati dai Soci Fondatori in sede di atto costitutivo della Fondazione;
- b. da liberalità provenienti da altre fonti pubbliche e private, compresi i fondatori, con espressa destinazione ad incremento del patrimonio;
- c. dalla parte di rendite non utilizzata che, con delibera del Consiglio di Amministrazione, venga destinata ad incrementare il patrimonio;
- d. dalle elargizioni fatte da enti o da privati e accettate dalla Fondazione con espressa destinazione a incremento del patrimonio.

Il **Fondo di gestione della Fondazione** è costituito:

- a. dalle rendite e dai proventi derivanti dal patrimonio e dalle attività della Fondazione medesima;
- b. da eventuali donazioni o disposizioni;
- c. testamentarie, provenienti dai Fondatori o da terzi, che non siano destinate a patrimonio;
- d. dagli altri contributi attribuiti dallo Stato, da enti territoriali o da altri enti pubblici;
- e. dai ricavi delle attività connesse.

Dicono della Fondazione

“Il valore di Fondazione Angiolini” va ben al di là dei numeri – sottolinea il **prof. Alberto Mantovani**, Direttore Scientifico di Humanitas, Presidente di Fondazione Humanitas per la Ricerca e docente di Humanitas University – È un segno di quanto sia importante e necessario farsi carico delle sfide cliniche (come l’osso) che costituiscono un problema per i nostri pazienti. Inoltre, catalizza uno sforzo collaborativo tra due grandi istituzioni come il Mario Negri e Humanitas: non dimentichiamo che sempre più il progresso della scienza medica dipende dal fare massa critica e avere sinergie significative. Quella di Fondazione Angiolini è una sinergia al servizio della ricerca e della salute”. (mar 2019).

“Ad oggi – riprende il **prof. Alberto Mantovani**, gli studi svolti sotto l’egida della Fondazione nel settore dell’immunologia dell’osso si sono cristallizzati in un intero fascicolo di *Frontiers Immunology* (Research Topic: Innate Immunity in the Context of Osteoimmunology - <https://www.frontiersin.org/research-topics/9648/innate-immunity-in-the-context-of-osteoimmunology>), a conferma della caratura internazionale del lavoro coordinato da Antonio Inforzato (Humanitas University) in collaborazione con Cristina Sobacchi (CNR) in un settore così importante. Inoltre, grazie al sostegno di

Fondazione Angiolini è stato avviato con risultati promettenti un ulteriore progetto di ricerca su biomarcatori di infezioni batteriche, che rappresentano un serio problema nel contesto della chirurgia protesica. In Humanitas lo studio, portato avanti nella chirurgia dell’anca, si avvale dello scambio di competenze e della stretta collaborazione tra ricerca preclinica, coordinata da Barbara Bottazzi e clinica, coordinata da Guido Grappiolo”. (feb/2021). I risultati ottenuti hanno aperto la strada ad una nuova sperimentazione clinica che ha l’obiettivo di validare l’utilità clinica di un nuovo marcatore diagnostico messo a punto nei nostri laboratori”. (feb/2022)

“Il mecenatismo di Beppe e Nuccy Angiolini ha due importanti finalità – spiega il **prof. Silvio Garattini**, direttore dell’Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri – Sostenere giovani ricercatori nel loro percorso di studio delle patologie dell’osso e della muscolatura e, contemporaneamente, rafforzare la collaborazione tra due qualificati Istituti di ricerca della Lombardia. In questo svolgendo una preziosa azione di sussidiarietà in un momento in cui lo Stato e le Istituzioni sembrano aver dimenticato il valore della ricerca. A loro va il più sincero ringraziamento del mio personale dell’intero Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri. (feb/2019)

Grazie alla generosità della Fondazione – sottolinea ancora il **prof. Silvio Garattini** - sono in corso ricerche che hanno permesso di reclutare dalla Danimarca la Dott.ssa Claudia Nastasi, una esperta in campo dell'immunologia dei tumori. La ricercatrice lavora con altri collaboratori per capire quali siano i rapporti fra le metastasi ossee provenienti da vari tipi di tumori, primariamente dal tumore della mammella e della prostata, e le risposte immunitarie. Queste risposte verranno seguite sia nella fase della disseminazione delle cellule tumorali a partire dal tumore primario, sia nella fase dell'impianto delle cellule a livello della matrice ossea. Queste ricerche verranno realizzate in associazione con studi riguardanti gli effetti antitumorali di farmaci citotossici e immunomodulanti al fine di trovare una ottimale sinergia fra chemioterapia e immunoterapia". (mar/2021)

"Conosco Beppe e Nuccy Angiolini da molti anni - ha commentato il **Cav. Ernesto Pellegrini** - e con mia moglie Ivana condividiamo con loro una stretta amicizia. Ho seguito la nascita della Sua Fondazione dall'inizio, quando sulla scia della costituzione della Fondazione Pellegrini mi partecipò la sua intenzione di costituire a sua volta una Fondazione indirizzata alla ricerca scientifica in campo medico. Beppe Angiolini è stato un punto di riferimento scrupoloso e puntuale del Consiglio di Amministrazione della Pellegrini per molti anni e sono sicuro che esprimerà nella Fondazione oltre ad una Sua vocazione filantropica un forte impegno al raggiungimento degli scopi della stessa. Bravissimi Beppe e Nuccy!" (apr/2021)

" Il valore della missione della Fondazione Beppe e Nuccy Angiolini Onlus– ha sottolineato il **Dott. Pierluigi Stefanini**, Presidente Gruppo Unipol e ASviS, Alleanza Italiana per lo Sviluppo Sostenibile – risulta immediato. Sostenere la ricerca in campo medico rappresenta una scelta lungimirante, piena di valore etico, impregnata di sensibilità e vocazione altruistica. Il momento storico che stiamo vivendo richiede ogni sforzo per investire nella ricerca medica per individuare soluzioni capaci di alleviare, curare e sconfiggere cronicità invasive e micidiali per la salute delle persone. La collaborazione attiva ed intelligente con centri di eccellenza quali Humanitas e Mario Negri di Milano contiene una visione ed una sensibilità davvero

encomiabili. Grazie al Dott. Angiolini e alla Signora Nuccy, con l'auspicio che questa strada di impegno pensato per il bene comune si rafforzi in uno spirito emulativo." (mar/2021)

"J'ai pu apprécier la droiture et le professionnalisme, tant de Beppe que de Nuccy, au cours des 30 dernières années – ha commentato **Jean Mouton**, Président du Conseil d'Administration di Nexans. Lorsqu'ils nous ont parlé, à Elena et moi, de leur projet de Fondation, nous avons de suite été séduits et rassurés sur le devenir de cette Institution, développée avec la même professionnalité que toutes les entreprises auxquelles ils ont pu participer au cours de leurs riches carrières. Nous y avons associé modestement quelques-uns de nos amis à un moment important de notre vie, et nous sommes aujourd'hui heureux d'avoir pris cette décision. Compliments di nuovo!" (apr/2021)

"La costituzione di una nuova Fondazione con scopi filantropici - sottolinea l' **Ing. Giuseppe Orsi**, AD della Fondazione Ernesto Pellegrini - è sempre motivo di grande gioia. In questi anni di condivisione delle difficoltà con i commensali del ristorante solidale Ruben e di approfondimento delle cause che le hanno determinate ci siamo resi conto quanto la salute sia un fattore determinante per la potenziale ripartenza delle persone passate in modo improvviso dal benessere all'indigenza. Sono certo che l'impegno della Fondazione Beppe e Nuccy Angiolini sarà un valore aggiunto importante anche per la rete che sostiene le persone in difficoltà: un altro mark nella Milano che si muove per la scienza e per chi ha bisogno." (gen/2021)

"Il grande valore della Fondazione Angiolini è sinergico con il quotidiano lavoro del Banco Alimentare – sottolinea il **Dott. Roberto Vitali**, Responsabile dei Progetti Speciali del Banco Alimentare per la Lombardia – la prima si occupa di salute e noi ci occupiamo di nutrire in modo sano e intelligente gli indigenti, entrambi abbiamo la medesima finalità: fare vivere meglio i bisognosi che vivono ai margini della società e ridurre i costi della sanità pubblica, con beneficio della intera collettività". (feb/2021)

“Da oltre 10 anni sono tesoriere di AHMIS, associazione che lavora all'interno dell'Ospedale Sacco di Milano - indica il **Dott. Ugo Lanza**-, gestendo l'Hospice del reparto Malattie Infettive. Non posso, quindi, che esternare il mio plauso per quanto la Fondazione Angiolini sta realizzando per la ricerca grazie alla concreta presenza di Humanitas sotto la guida del prof. Alberto Mantovani e dell'Istituto Mario Negri coordinato dal prof. Silvio Garattini. La ricerca è fondamentale per il miglioramento della qualità della vita dell'umanità”. (gen/2021)

“La Fondazione Angiolini –Dice **Toti Faraone**-commercialista in Milano-, grazie alla cooperazione con Humanitas e Mario Negri rappresenta anche i valori fondanti del Rotary: amicizia, servizio, leadership, diversità ed integrità. Assieme a mia moglie Franca ci complimentiamo con Beppe e Nuccy Angiolini per il generoso contributo che donano alla società tramite l'opera della loro Fondazione”. (apr/2021)

L'Amministrazione Comunale di Vernate nella persona del Sindaco Signora Carmen Manduca, a seguito di delibera di Giunta, ha conferito, l'11 settembre 2021 la civica benemerita “Spiga d'Oro” ai Fondatori con la seguente motivazione: “a Giuseppe Angiolini e Giuseppina Sala Angiolini per le finalità di indubbia utilità sociale della *Onlus Beppe e Nuccy Angiolini* della quale sono entrambi Soci fondatori, con particolare riferimento alla promozione dello sviluppo della ricerca scientifica nel campo delle malattie infettive, dei meccanismi di resistenza e di patologia ad esse correlati”. (set/2021)

“Saper e volere guardare oltre, al futuro anche lontano pur nella consapevolezza che probabilmente non ci apparterrà - ha sottolineato il **Dott. Fabio Cerchiai**, Presidente di Atlantia-. Questo innanzi tutto significa guardare *più in là* della nostra sfera di personale interesse. Significa certo guardare alle persone con cui si condividono affetti, lavoro e vita quotidiana ma anche alla comunità intera. Ed è questo modo di essere e di agire, questo sentimento, questo autentico valore che caratterizza l'altruistica iniziativa con cui Beppe e Nuccy hanno dato vita alla Fondazione Angiolini. È, credo, in questa ottica e con questa

prospettiva che vogliono svilupparne l'attività in campo medico al servizio della ricerca ed in favore della salute collettiva. Non solo una scelta filantropica di grande valenza etica ma anche lungimirante e rispondente a bisogni concreti della collettività intera e di cui siamo quindi tutti potenziali beneficiari. Con questa sincera convinzione vi rinnovo quindi, cari Beppe e Nuccy, non solo la mia ammirazione ma anche la mia gratitudine per l'iniziativa intrapresa alla quale auguro un grande e memorabile successo.” (feb/2022)

Il mecenatismo di Beppe e Nuccy Angiolini continua attraverso la loro Fondazione mediante la valorizzazione di giovani ricercatori come la Dr.ssa Claudia Nastasi che è rimpatriata dalla Danimarca dove si era recata per una formazione in campo oncologica. “*Si tratta di un "brain gain"* - come sottolinea il **Prof. Silvio Garattini**, presidente e fondatore dell'Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri IRCCS - che migliorerà le nostre capacità di contribuire ad un capitolo importante della patologia ossea.” L'osso è, infatti, un sito di metastatizzazione che colpisce molti pazienti con cancro avanzato al seno (70%), prostata (85%), polmone (40%), rene (40%) e mieloma multiplo (95%). Le terapie attuali riducono le fratture associate alle metastasi ma mostrano effetti avversi, quindi, sembra importante dover svilupparne nuovi o migliorare il delivery delle terapie attuali. Il primo obiettivo è quello di sviluppare nanotecnologie avanzate, in particolare nanoparticelle (organiche ed inorganiche, tollerate dal nostro organismo), che siano in grado di raggiungere in modo selettivo le metastasi osse e rilasciare farmaci, sia quelli attualmente adoperati in clinica che altri di nostro interesse. Infatti, come secondo obiettivo ci si prefigge di verificare altre ipotesi terapeutiche: (i) dalla modulazione del microambiente tumorale osseo modificandone le proteine di matrice, (ii) alla valutazione dell'efficacia di un farmaco immunostimolante capace di risvegliare il sistema immunitario, educandolo a reagire contro le cellule tumorali ed a sviluppare una memoria protettiva. “Questo progetto - commenta il **Prof. Garattini** - porta con sé numerose sfide, dal riconoscimento ed ottimizzazione della giusta formulazione di nanoparticelle da validare in vitro sino

all'individuazione del giusto protocollo di somministrazione da testare in modelli animali. Per la multidisciplinarietà del progetto, quindi, si dovranno coinvolgere sia altri ricercatori del Mario Negri che figure esterne dell'Università Statale di Milano. Ciascuno contribuirà con le proprie

competenze al raggiungimento di questo difficile obiettivo ma senza la generosità della Fondazione Beppe e Nuccy Angiolini non sarebbe possibile affrontare tale sfida." (feb/22)

Attività del Consiglio di Amministrazione nel 2021

Nel corso dell'anno 2021, il Consiglio di Amministrazione si è riunito tre volte per gli aggiornamenti ai progetti in corso. In particolare nei Consigli di luglio e dicembre, presenti il Prof. Silvio Garattini, il Prof. Alberto Mantovani e i ricercatori coinvolti nei progetti sono stati illustrati i progressi nei due progetti *"Ruolo della pentraxina lunga PTX3 nell'osteomielite"* in corso presso la Fondazione Humanitas per la Ricerca, e del progetto *"Metastasi ossee: studio delle basi biologiche e sviluppo di nuove strategie terapeutiche"* in corso presso l'Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri IRCCS.

Inoltre il Consiglio di dicembre 2021 ha approvato per il triennio 2022-2024 presso la Fondazione Humanitas per la Ricerca, il progetto *"Diagnosi e potenziale terapeutico della pentraxina lunga PTX3 nelle infezioni batteriche dell'osso"* e presso l'Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri il progetto *"Nuove strategie terapeutiche mirate al microambiente tumorale delle metastasi ossee"*.

Le donazioni approvate da parte del Consiglio di Amministrazione della Fondazione per il finanziamento dei due progetti ammontano a € 720.000 per il triennio 2022-2024, di cui la prima rata è stata versata nel dicembre 2021

Sintesi della Situazione Economica e Finanziaria al 31 Dicembre 2021

Per quanto riguarda il dato economico relativo al risultato della gestione 2021, a fronte di entrate per donazioni e altre entrate diverse per euro 242.943 si sono registrate uscite per donazioni, ammortamenti e oneri diversi per euro 241.592, con un risultato positivo della gestione per euro 1.351. Il patrimonio netto della Fondazione al 31 Dicembre 2021 è pari ad euro 116.891. Di seguito sono riportati in maggior dettaglio i Rendiconti Gestionale, Patrimoniale e Finanziario meglio descritti nel Bilancio di Esercizio 2021.

Sintesi rendiconto gestionale (dati in euro)	2021	2020
Apporto dei Fondatori	240.000	250.000
Altre erogazioni liberali	2.200	150
Proventi attività finanziari	0	7.506
Proventi del 5 per mille	742	0
Altri proventi	1	3
Totale proventi	242.943	257.659
Ammortamenti immobilizzazioni immateriali	-1.476	-2.175
Oneri bancari e finanziari	-15	-1.698
Costi per Servizi	-101	-72
Altri oneri e sopravvenienze passive	0	-121
Totale disponibilità generate nell'esercizio	241.351	253.593

Assegnazioni deliberate dagli organi istituzionali	-240.000	-240.000
Pubblicazioni scientifiche	0	-13.554
Avanzo di gestione del periodo	1.351	39

Sintesi rendiconto patrimoniale (dati in euro)	2021	2020
Immobilizzazioni Immateriali	3.312	4.787
Disponibilità liquide	113.406	110.752
Risconti attivi	173	0
Totale attivo	116.891	115.539
Fondo di dotazione	100.000	100.000
Patrimonio libero	16.890	15.539
Patrimonio netto	116.890	115.539
Altri debiti	1	0
Totale passivo	116.891	115.539

Sintesi Rendiconto finanziario (dati in euro)	2021	2020
Liquidità netta all'inizio del periodo	110.752	108.490
Entrate per apporti dei Fondatori	240.000	250.000
Entrate erogazioni liberali	2.200	150
Entrate del 5 per mille	742	0
Entrate da rapporti bancari	1	6.144
Flusso di cassa generato nel periodo	242.943	256.294
Uscite per attività di interesse generale	240.000	240.000
Uscite per attività diverse	0	13.554
Uscite da attività finanziarie	14	406
Uscite per attività di supporto generale	275	72
Totale uscite nel periodo	240.289	254.032
Liquidità netta alla fine del periodo	113.406	110.752

Le uscite per attività di interesse generale sono dettagliatamente descritte nel paragrafo "Donazioni effettuate dalla Fondazione ai Progetti in corso nell'anno 2021" e nel paragrafo "I progetti finanziati dalla Fondazione ed in corso di esecuzione".

Donazioni effettuate dalla Fondazione ai Progetti in corso nell'anno 2021

Le donazioni effettuate dalla Fondazione nel 2021 e relative al primo anno del secondo triennio di finanziamento dei due Progetti che saranno sviluppati nel periodo 2022-2024 sono state complessivamente di euro 240.000 come segue:



Fondazione Humanitas per la Ricerca € 120.000



Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri € 120.000

I progetti finanziati dalla Fondazione ed in corso di esecuzione

Nel corso del 2021, in coerenza con quanto previsto dalle delibere approvate e finanziate dalla Fondazione, sono continuate le attività dei due Progetti e più specificatamente:

PROGETTO 1. Ruolo della pentrassina lunga PTX3 nell'osteomielite, sviluppato presso la Fondazione Humanitas per la Ricerca (FHR), in collaborazione con l'Istituto di Ricerca Genetica e Biomedica del Consiglio Nazionale delle Ricerche (IRGB-CNR) presso l'Istituto Clinico Humanitas IRCCS (ICH).



Stato dell'arte e rationale dello studio.

L'osteomielite è un'infezione ossea debilitante spesso sostenuta dal batterio *Staphylococcus aureus* (SA) [Kavanagh et al, *Clin Microbiol Rev.* 2018, **31**(2): e00084-17]. Con l'espandersi dei fenomeni di antibiotico-resistenza e l'aumentare del numero delle procedure chirurgiche per impianto e sostituzione di protesi articolari, nonché in considerazione dell'invecchiamento della popolazione, la domanda di nuovi approcci profilattici e terapeutici al trattamento dell'osteomielite è divenuta urgente. La pentrassina lunga PTX3 è una proteina dell'immunità innata che svolge ruoli importanti nella protezione da microrganismi patogeni [Garlanda et al, *Physiol Rev.* 2018, **98**(2):623-639] ed è riconosciuta quale potenziale biomarcatore diagnostico e prognostico in molteplici infezioni, ivi comprese quelle da ceppi di SA meticillino-resistenti (MRSA) [Porte et al, *Front Immunol.* 2019, **10**: 794].

Ipotesi. In studi precedenti abbiamo dimostrato che il deficit genetico di PTX3 in animali sperimentali è associato a ridotta formazione della matrice ossea durante il rimodellamento fisiologico dell'osso e la sua rigenerazione dopo

frattura [Grčević et al, *Front Immunol.* 2018, **9**:417], il che suggerisce un ruolo importante per questa pentrassina nel turn-over del tessuto muscoloscheletrico [Parente et al, *Front Immunol.* 2019, **10**:2628]. Sulla base di questa evidenza e del ruolo che PTX3 svolge nelle infezioni opportunistiche e nella sepsi, ipotizziamo che questa molecola possa essere coinvolta nell'eziopatogenesi dell'osteomielite.

Obiettivi generali e risultati attesi. Questo progetto di ricerca si propone di investigare il ruolo di PTX3, quale paradigma dell'immunità umorale all'interfaccia con la matrice ossea, nell'osteomielite da SA. E' atteso che questo studio generi nuove ipotesi meccanicistiche in osteoimmunologia e fornisca indicazioni originali su modalità innovative di trattamento dell'osteomielite.

Obiettivi specifici al terzo anno (2021). Nello specifico, nel corso del 2021 lo studio è stato finalizzato a:

1. completare la valutazione degli outcome primari (infezione) e secondari (morfometria, istologia, citologia e infiammazione) in un modello animale (murino) di infezione locale (nel femore) da SA che ricapitola l'osteomielite da chirurgia e/o trauma nell'uomo e consente di studiare il ruolo patogenetico di PTX3 *in vivo*. Nel quadro generale di questo obiettivo, è stato valutato il blocco farmacologico della proteina PTX3 mediante uno specifico anticorpo monoclonale quale rationale per lo sviluppo di nuove strategie terapeutiche per il trattamento delle infezioni ossee. E' stato, inoltre, valutato l'effetto del sesso sull'infezione sperimentale, mediante l'impiego di topi di sesso femminile;
2. finalizzare lo sviluppo di modelli sperimentali 3D *in vitro* che riproducono il microambiente

dell'osso in condizioni di infezione da SA e consentono di apprezzare il ruolo di PTX3, quali strumenti di verifica e/o sviluppo di ipotesi meccanicistiche.

3. ultimare l'analisi del potenziale di PTX3 quale biomarcatore per la diagnosi delle infezioni articolari periprotetiches sulla base dei dati generati in un precedente studio clinico condotto in ICH. E' stato, altresì, predisposto un nuovo protocollo di studio finalizzato all'identificazione di biomarcatori genetici della suscettibilità all'infezione periprotetica e della severità di patologia.

Piano sperimentale. Il perseguimento degli obiettivi progettuali precedentemente elencati ha richiesto una pianificazione delle attività sperimentali su livelli multipli come di seguito dettagliato:

Piano sperimentale dell'obiettivo 1: infettare con SA (per via intra-femorale) topi wild type (WT) e geneticamente modificati (PTX3 deficienti, o PTX3^{-/-}) di entrambi i sessi, e monitorare l'evoluzione della patologia scheletrica in termini di carica microbica, parametri sierologici, immunologici, osteologici e morfometrici. In un modello sperimentale di profilassi, abbiamo inoltre quantificato l'infezione nell'arto di topi WT cui è stato somministrato (per via intraperitoneale) un anticorpo monoclonale che riconosce e blocca la proteina PTX3. Queste attività sono state svolte in collaborazione con la dott.ssa Cristina Sobacchi (IRGB).

Piano sperimentale dell'obiettivo 2: ottimizzare le condizioni di co-cultura di cellule MC3T3 (linea murina pre-osteoblastica) e SA su scaffold ossei biomimetici di nuova concezione [Menale et al, *Stem Cells Transl Med.* 2019, **8**(1):22-34], e definire protocolli di estrazione di mRNA da cellule MC3T3 e batteri con l'obiettivo di valutare l'espressione di geni di interesse nel corso dell'infezione (meta-trascrittomica). Queste attività hanno visto il coinvolgimento delle dott.sse Monica Sandri (Istituto di Scienza e Tecnologia dei Materiali Ceramici del CNR, ISTEC) ed Anna Tampieri (ISTEC ed Istituto per lo Studio dei Materiali Nanostrutturati del CNR, ISMN).

Piano sperimentale dell'obiettivo 3: analisi dei dati

generati nell'ambito di uno studio diagnostico coordinato dal dott. Mattia Loppini (Medico Assistente presso l'Unità di Ortopedia dell'Anca e Chirurgia Protesica di ICH) e dalla dott.ssa Barbara Bottazzi (Responsabile del Laboratorio di Immunofarmacologia di ICH) in cui sono stati arruolati soggetti con protesi d'anca o ginocchio e sospetta infezione periprotetica, sottoposti a chirurgia di revisione. In questi soggetti è stata misurata la concentrazione di PTX3 nel plasma e nel liquido sinoviale e ne è stata valutata l'associazione con la presenza di infezione ed il suo grado di severità. E' stato inoltre redatto, approvato (dal Comitato Etico indipendente di ICH) ed avviato un nuovo protocollo di studio clinico di tipo retrospettivo che, basandosi sulla coorte arruolata nello studio precedente, integrerà i dati clinici e biochimici già disponibili con informazioni di natura genetica (da DNA genomico) allo scopo ultimo di identificare biomarcatori genetici della suscettibilità all'infezione periprotetica.

Metodologia applicata. Le attività proposte sono state svolte applicando una strategia sperimentale interdisciplinare che combina tecniche e metodologie della microchirurgia, della microbiologia, dell'immunologia molecolare e cellulare, dell'imaging nel piccolo animale e della diagnostica clinica.

Conclusioni al terzo anno (2021) dello studio.

Obiettivo 1. I risultati ottenuti nel corso del 2021, in combinazione e ad integrazione di quelli generati nei primi due anni dello studio, indicano che il deficit genetico di PTX3 protegge dall'infezione da SA quando il patogeno è iniettato direttamente nella cavità midollare del femore di animali sperimentali (topi), condizione che mima l'osteomielite da chirurgia e/o trauma nell'uomo. In particolare, abbiamo osservato che gli animali PTX3 deficienti mostrano una considerevole riduzione della carica batterica nell'arto infetto e presentano, in generale, sintomi di sofferenza più lievi rispetto agli animali WT. In linea con queste osservazioni, la risposta infiammatoria è più accentuata negli animali WT SA rispetto a quelli PTX3^{-/-} SA, in termini di espansione del compartimento leucocitario e contrazione di

quello linfocitario nella milza. Inoltre, l'effetto protettivo associato al deficit di PTX3 è evidente già a tempi brevi (6 giorni) dall'infezione con SA. A tempi brevissimi (3 giorni), non vi è differenza in termini di carica batterica nell'arto infetto tra topi WT e PTX3^{-/-}. Considerando che la proteina PTX3 è indotta nel tessuto osseo a 6 giorni dall'infezione, quest'ultima evidenza suggerisce che questa peptidasi lunga svolga un ruolo diretto nella patogenesi dell'osteomielite.

Inoltre, abbiamo dimostrato che in questo modello l'effetto protettivo associato al deficit di PTX3 è indipendente dal sesso degli animali sperimentali, un dato di potenziale rilievo traslazionale nella medicina di genere.

Infine, in un modello di profilassi, la somministrazione sistemica di un anticorpo monoclonale anti-PTX3 riduce la carica batterica nell'arto infetto. Questo risultato indica che PTX3 svolge un ruolo specifico nella patogenesi dell'osteomielite, e supporta l'ipotesi che il suo blocco farmacologico possa costituire una strategia terapeutica per il trattamento delle infezioni ossee.

Obiettivo 2. Abbiamo sviluppato un modello 3D di osteomielite basato su co-culture di osteoblasti ed SA in matrici ossee biometriche (MgHA/Col) che ricapitola aspetti fondamentali del microambiente muscoloscheletrico (architettura tridimensionale, matrice extracellulare) e che ha consentito di apprezzare l'effetto della matrice ossea sulla biologia degli osteoblasti in assenza ed in presenza di batteri [Parente et al, *Pathogens* 2021, **10**: 837]. Questo modello sarà di particolare utilità per lo studio di ipotesi meccanicistiche relativamente ai meccanismi patogenetici delle infezioni ossee.

Obiettivo 3. La proteina PTX3 nel liquido sinoviale si configura quale marcatore diagnostico di infezione periprotetica ad elevata specificità e sensibilità. Sulla scia di queste evidenze, è stato elaborato un nuovo protocollo di studio che prevede di integrare i dati clinici e biochimici disponibili dalla stessa coorte di pazienti con informazioni di natura genetica. Questo studio, dal titolo "Identificazione di biomarcatori genetici della suscettibilità all'infezione periprotetica di anca e ginocchio e della severità di patologia", si

propone di valutare l'associazione tra polimorfismi a singola base (SNPs) presenti nel gene PTX3 e l'incidenza di infezione periprotetica dell'anca e del ginocchio in pazienti sottoposti a chirurgia di revisione. Esso sarà coordinato dal dott. Loppini (quale responsabile clinico) e dal dott. Inforzato e dalla dott.ssa Sobacchi (quali responsabili scientifici). Il relativo protocollo è stato autorizzato dal Comitato Etico Indipendente di ICH, ed è al momento in corso l'arruolamento dei pazienti.

Pubblicazioni scientifiche. Di seguito sono riportate le pubblicazioni dei ricercatori del progetto nel 2021:

1. Parente R, Possetti V, Erreni M, D'Autilia F, Bottazzi B, Garlanda C, Mantovani A, Inforzato A, Doni A. (2021) Complementary roles of short and long pentraxins in the complement-mediated immune response to *Aspergillus fumigatus* infections. *Front Immunol.* 12:785883 [doi: 10.3389/fimmu.2021.785883]
2. Parente R, Possetti V, Schiavone ML, Campodoni E, Menale C, Loppini M, Doni A, Bottazzi B, Mantovani A, Sandri M, Tampieri A, Sobacchi C, Inforzato A. (2021) 3D Cocultures of Osteoblasts and *Staphylococcus aureus* on Biomimetic Bone Scaffolds as a Tool to Investigate the Host-Pathogen Interface in Osteomyelitis. *Pathogens* 10, 837. [https://doi.org/10.3390/pathogens10070837]

Partecipazione a congressi.

Le partecipazioni a congressi sono state:

1. 12th National Congress of the Italian Society of Immunology, Clinical Immunology and Allergology (SIICA) – May 26th/28th (VIRTUAL) – "Host-pathogen interface in *Staphylococcus aureus*-dependent osteomyelitis: emerging roles of the long pentraxin PTX3" Raffaella Parente, Valentina Possetti, Maša Filipović, Ciro Menale, Eleonora Palagano, Maria Lucia Schiavone, Barbara Bottazzi, Alberto Mantovani, Danka Grčević, Cristina Sobacchi, Antonio Inforzato [Poster Communication]
2. 6th European Congress of Immunology – September 1st/4th (VIRTUAL) – "The long pentraxin PTX3 at the host-pathogen interface in

Staphylococcus aureus-dependent osteomyelitis”
Raffaella Parente, Valentina Possetti, Maria Lucia Schiavone, Masa Filipovic, Elisabetta Campodoni, Ciro Menale, Eleonora Palagano,

Barbara Bottazzi, Monica Sandri, Anna Tampieri, Danka Grcevic, Alberto Mantovani, Antonio Inforzato [Selected Abstract for Oral Communication]

PROGETTO 2. Metastasi ossee: studio delle basi biologiche e sviluppo di nuove strategie terapeutiche, sviluppato presso l’Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri IRCCS, nelle sedi di Milano e Bergamo.



La presenza di metastasi ossee riduce fortemente la sopravvivenza e la qualità della vita di questi pazienti anche perché le terapie disponibili per contrastarle sono poco efficaci. È quindi molto importante attuare della ricerca focalizzata allo studio delle metastasi ossee che ponga le basi per lo sviluppo di nuove strategie terapeutiche per le metastasi ossee.

Obiettivi generali del progetto.

Questo progetto si prefigge di studiare il microambiente (TME) della metastasi ossee per sviluppare nuovi approcci farmacologici che, agendo sul TME, possano inibire lo sviluppo e la progressione delle metastasi all’osso.

Lo studio è stato suddiviso in due sottoprogetti:

1. modulazione farmacologica dei macrofagi del microambiente metastatico per l’acquisizione di un fenotipo antitumorale che inibisca l’attecchimento e la progressione tumorale metastatica.
2. analisi del ruolo della TSP-1 nello sviluppo di metastasi ossee osteolitiche e identificazione di specifici domini con potenziale attività antimetastatica come base per nuovi approcci terapeutici.

Stato dell’arte e razionale dello studio.

Il microambiente tumorale (TME), nelle sue componenti cellulari e molecolari, ha un ruolo determinante nella malattia oncologica, e in particolare nello sviluppo delle metastasi. Questa considerazione ha aperto la strada allo sviluppo di diversi strumenti terapeutici per alterare o “rieducare” il microambiente tumorale, con il fine ultimo di ostacolare la crescita dei tumori e delle metastasi.

Nello specifico, l’interazione delle cellule tumorali con cellule e molecole presenti nell’osso guida ogni fase del processo di formazione delle metastasi ossee, regolando la migrazione delle cellule tumorali alla sede ossea, la sopravvivenza delle cellule tumorali stesse che sfuggono al sistema immunitario, la proliferazione della nuova lesione, e infine l’attivazione di cellule deputate al rimodellamento osseo per formare lesioni osteolitiche o osteoblastiche.

È da sottolineare come le metastasi ossee rappresentino un problema medico importante in quanto molti tumori maligni umani, alcuni dei quali molto frequenti come quelli della mammella e della prostata, metastatizzano frequentemente all’osso.

Sottoprogetto 1. Modulazione farmacologica dei macrofagi del microambiente metastatico per l’acquisizione di un fenotipo anti-tumorale che inibisca la progressione tumorale.

Stato dell’arte e razionale. Il sistema immunitario (SI) è composto da elementi cellulari e fattori che condizionano l’organismo umano sia in stato di salute che in malattia. Il SI si divide in due parti: una “immunità innata” (aspecifica ed immediata) ed un’altra “adattativa” (antigene specifica e di

memoria) che, essendo interconnesse, si supportano e regolano a vicenda. Ad oggi, la modulazione del sistema immunitario ad uso terapeutico è sempre più radicata in clinica oncologica con risultati incoraggianti.

In generale, l'immunità anti-tumorale comporta la cattura e l'elaborazione degli antigeni tumorali da parte delle cellule presentanti l'antigene (APC) e la loro presentazione alle cellule T in modo da innescare la risposta adattativa; in seguito, i linfociti T migrano verso il tumore per esercitare specifici effetti antitumorali. Le APC giocano quindi un ruolo chiave nella risposta immunitaria e sono di due tipi: i macrofagi (MΦ) che sono residenti tissutali e che possono assumere fenotipo sia M1 (immunostimolante, anti-tumorale) che M2 (immunosoppressivo, tolerogenico), e le cellule dendritiche (DC) che hanno la capacità di migrare e indurre una risposta specifica esercitata dal sistema immunitario adattativo. I MΦ svolgono un ruolo essenziale per l'inizio e la progressione tumorale e metastatica condizionando quindi la prognosi della malattia; quelli associati al tumore sono denominati TAM e possono modificare il microambiente tumorale (TME) che, generalmente, promuove un fenotipo immunosoppressivo attraverso meccanismi molecolari e fattori che inibiscono l'attività delle cellule immunitarie. Ad oggi modulare il TME ed il fenotipo delle APC rappresenta un passo per lo sviluppo di un nuovo approccio per l'immunoterapia contro diverse tipologie tumorali e cancro.

Ipotesi dello studio. La nostra strategia d'azione punta alla rieducazione funzionale dei macrofagi MΦ e M2 del TME verso un profilo M1; tale switch sposterà l'equilibrio del TME che favorisce la crescita della massa metastatica risvegliando una risposta immunitaria antitumorale finalizzata ad una riduzione delle metastasi ossee.

A tal fine, è stata individuata una classe di farmaci agonisti dei recettori Toll-like receptors (TLRs) come possibili candidati. Questi recettori sono espressi dalle cellule target ma per evitare il loro effetto sui macrofagi di altri tessuti verranno generati, in collaborazione con il Politecnico di Milano, sistemi di delivery mirata evitando l'effetto sistemico indesiderato. Inoltre tali farmaci sono già stati approvati dalla Food and Drug Administration

agency (FDA), che consentirebbe una più veloce applicabilità in clinica.

Obiettivi generali:

- Sintesi di nanoparticelle biocompatibili (NPs) che consentano la delivery selettiva dei farmaci all'osso per condizionare i macrofagi del TME. Allo stesso tempo, tale strategia verrà messa a confronto con costrutti di farmaci legati ai bifosfonati, i quali verranno sfruttati come agenti carrier dato il loro elevato tropismo osseo.
- Studi *in vitro* su macrofagi generati da materiale murino e umano, per determinare l'efficienza dei trattamenti farmacologici mediante analisi molecolari e fenotipiche.
- Studi *in vivo* su modelli animali di metastasi ossee per analizzare l'attività dei farmaci immunomodulanti e validare la migliore strategia di delivery farmacologica.

Gli obiettivi raggiunti del terzo anno

1. Caratterizzazione del farmaco
2. Messa a punto della metodica di coltura di macrofagi umani e murini, ed analisi dello switch trascrizionale e fenotipico delle cellule a seguito del trattamento, con definizione del range di concentrazione ottimale.
3. Approvazione del progetto al fine sperimentazione animale da parte dell'ISS.
4. Sviluppo di nanotecnologie selettive per l'osso ed in grado di trasportare il farmaco nella sede tumorale, targettando i macrofagi del microambiente tumorale.

In linea con gli obiettivi e lo stato dell'arte, è stato necessario caratterizzare il farmaco per studiarne le caratteristiche chimico-fisiche e successivamente osservarne *in vitro* l'effetto modulante su cellule target primarie, ovvero i macrofagi murini ed umani.

Successivamente, per consentire la delivery mirata alle ossa sono state considerate due possibili strategie nanotecnologiche: la sintesi di nuovi costrutti farmacologici e la sintesi di nanoparticelle (polimeriche ed organiche).

Queste formulazioni sono state caratterizzate e studiate per stabilirne la stabilità e la capacità di rilasciare il principio attivo.

Risultati

I risultati ottenuti nei mesi di lavoro hanno delucidato quale dose del farmaco in esame R848 è in grado di indurre lo switch di fenotipo nei macrofagi indifferenziati M0 e quelli M2 verso un fenotipo immunostimolante M1.

Nel giugno 2021 abbiamo ottenuto l'approvazione dell'ISS dei progetti al fine sperimentazione animale che ci ha consentito di proseguire sia gli esperimenti *in vitro* che *in vivo*.

Al fine di poter limitare l'effetto indesiderato di un'inflammatione sistemica e migliorare il targeting alle ossa, aumentando la selettività del trattamento verso l'organo, sono stati sintetizzati sia nuovi costrutti farmacologici che NPs di natura polimerica ed organica.

Fra le nanotecnologie studiate, le NPs sia di natura polimerica (di poli-caprolattone) che organica (liposomi) hanno dato i risultati migliori rispetto alle molecole di nuova sintesi. Sono però necessarie ottimizzazioni, in termini di carico e stabilità, per garantire il successo nella sperimentazione *in vivo*. Dal 2022 saranno presi in considerazione sia nuovi costrutti farmacologici che nuove tipologie di NPs per ampliare il ventaglio di possibilità del targeting mirato, obiettivo di questo progetto.

Sottoprogetto 2. Ruolo della TSP-1 nello sviluppo di metastasi ossee osteolitiche e identificazione di specifici domini con potenziale attività anti-metastatica come base per nuovi approcci terapeutici

Stato dell'arte e razionale. Lo progetto è basato sulla nota capacità della trombospondina-1 (TSP-1) di organizzare il microambiente tumorale e coordinare la risposta delle cellule a variazioni delle proprietà del microambiente. Grazie alla sua struttura modulare, infatti, la TSP-1 lega un gran numero di molecole, compresi fattori coinvolti nella formazione di metastasi e nel rimodellamento dell'osso. Sulla base di questa evidenza si è ipotizzato che questa proteina possa avere un ruolo nel regolare lo sviluppo di metastasi ossee osteolitiche. Nel corso dei primi due anni del

progetto abbiamo identificato un frammento di TSP-1 attivo nell'inibire la formazione di metastasi osteolitiche, e che riteniamo possa servire da modello per il disegno di terapie antimetastatiche.

Obiettivi specifici del terzo anno

Sulla base dei risultati ottenuti nei primi due anni di studio, nel terzo anno la nostra attività si è focalizzata soprattutto sulla caratterizzazione dell'azione osteoprotettiva e antimetastatica della TSP-1 e del suo frammento:

1. analizzandone l'effetto su diverse popolazioni cellulari e indentificando i meccanismi molecolari coinvolti.
2. confrontando l'espressione di TSP-1 nel contesto di metastasi osteolitiche o osteoblastiche, in relazione a altre molecole rilevanti per le metastasi ossee.

Risultati ottenuti nel terzo anno

- 1) Nell'ambito dello studio volto a caratterizzare l'azione osteoprotettiva e antimetastatica della TSP-1, abbiamo analizzato l'azione della TSP-1 nelle diverse fasi del processo di differenziamento delle cellule deputate al controllo del rimodellamento della matrice ossea. I risultati hanno messo in evidenza un'azione complessa della TSP-1, dovuta alla sua capacità di legare fattori che regolano questo processo, modulandone l'attività sulle cellule.
- 2) La TSP-1 è presente in diversi contesti tumorali dove svolge funzioni diverse, a volte opposte, a seconda del contesto molecolare e dell'esposizione dei suoi siti attivi. Abbiamo utilizzato tecniche di bioinformatica per confrontare l'espressione di TSP-1 e di molecole ad essa associate in metastasi ossee da pazienti con carcinoma della mammella (prevalentemente osteolitiche) e della prostata (prevalentemente osteoblastiche).

Conclusioni per il terzo anno della ricerca

L'attività di ricerca nel 2021 ha confermato l'ipotesi iniziale del progetto, cioè la possibilità di sviluppare composti terapeutici che rieducano il microambiente, e nello specifico cellule immunitarie e cellule deputate al rimodellamento della matrice ossea, per contrastare la crescita

delle metastasi e proteggere l'osso dalla degradazione patologica. Inoltre sono stati fatti progressi nella messa a punto di molecole attive e di strategie per indirizzare queste terapie in modo selettivo all'osso, che saranno oggetto dello studio nei prossimi anni.

Pubblicazioni

- Carminati L, Taraboletti G. Thrombospondins in bone remodeling and metastatic bone disease. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2020 Dec 1;319(6):C980-C990. doi: 10.1152/ajpcell.00383.2020.
- Nastasi C, Mannarino L, D'Incalci M. – DNA Damage Response and Immune Defense. *International Journal of Molecular Sciences.* 2020; 21(20):7504, doi: 10.3390/ijms21207504.

Presentazioni e Congressi

- Carminati L, Sangalli F, Borsotti P, Pinessi D, Broggin M, Remuzzi A, Giavazzi R, Taraboletti G. Modeling bone microenvironment changes in breast cancer bone metastasis. 61st Annual Meeting of the Italian Cancer Society (SIC), Naples, Nov 6-8, 2019
- Carminati L, Sangalli F, Borsotti P, Pinessi D, Broggin M, Taraboletti G. Investigating the role of thrombospondins in bone remodeling and metastasis. European Association for Cancer Research, EACR 2020, Torino (postponed to 09-12 June 2021)
- Carminati L, Sangalli F, Borsotti P, Pinessi D, Broggin M, Taraboletti G. Modeling osteolytic bone metastasis to investigate the role of thrombospondins. Matrix Biology Europe 2020, Florence (postponed to 2022)
- Carminati L., Borsotti P., Sangalli F., Taraboletti G. Targeting bone microenvironment in osteolytic metastases. 2021 OU-ARC Research Symposium "Cancer: From Concepts to Cures", 15 - 17 November 2021

I nuovi progetti per il periodo 2022-2024

La Fondazione Beppe e Nuccy Angiolini ha approvato nel Dicembre 2021 due nuovi progetti che saranno sviluppati rispettivamente da Humanitas Research Hospital in collaborazione con Istituti di Ricerca Nazionali ed Internazionali e dall'Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri IRCCS, come descritti di seguito.

Progetto 3. Diagnostic and therapeutic potential of the long pentraxin PTX3 in bacterial infections of the bone, che sarà sviluppato nel periodo 2022-2024 presso Humanitas University a cui partecipano ricercatori del National Research Council-Institute for Genetic and Biomedical Research (CNR-IRGB), National Research Council-Institute of Science and Technology for Ceramics (CNR-ISTEC), Faenza (RA), University of Zagreb, Zagreb – Croatia



Executive summary

Bone infections, including *Staphylococcus aureus* (SA)-dependent osteomyelitis (OM) secondary to trauma and arthroplasty, are severe diseases, often characterized by incomplete functional reconstitution and progressive frailty of the affected bone. Over the last three years, we have demonstrated that the long pentraxin PTX3, a soluble protein of the innate immune system at the interface between infection immunity and bone biology, plays a role in OM pathogenesis. In this regard, we have shown that:

- a. in a mouse model of SA-OM, PTX3 aggravates the disease while the absence of this protein is associated with less severe pathology, pointing to the pharmacological blockade of PTX3 as a new strategy in the therapy of bone infections;
- b. the concentration of the PTX3 protein in the synovial fluid specifically predict infection in patients undergoing revision arthroplasty, which is of clinical relevance in the management of OM patients.

Building upon these findings and our past experience, we will:

- a. characterize the molecular mechanism(s) of PTX3 in the pathogenesis of OM;
- b. evaluate the pharmacological blockade of PTX3 and its combination with nano-delivered antibiotics in the prophylaxis/therapy of OM;
- c. assess and validate the diagnostic potential of PTX3 (and other selected genes) as a genetic biomarker in periprosthetic joint infections (PJIs).

These objectives will be pursued in a translational research project that integrates in vivo modelling of OM (in a murine model of SA-OM), in vitro experimentation (on bone biomimetic 3D scaffolds), and clinical studies (both in retrospective and prospective cohorts of PJI patients).

Project proposal

Osteomyelitis (OM) is an infectious disease of the bone primarily caused by the opportunistic pathogen *Staphylococcus aureus* (SA). OM can arise from hematogenous spreading of the microbe, or after a trauma (i.e., fracture or surgery), and is associated with intense local inflammation, extensive tissue remodeling (with abnormal periosteal bone formation and bone destruction), and pain. Aggressive antimicrobial therapies are the standard of care, however multiple revision surgeries are often needed that result into incomplete functional reconstitution and progressive frailty of the infected bone. Hence, elevated are the healthcare and social costs of OM, which calls for timely research into its pathogenetic mechanisms to orient and improve patient management.

The bone is a favorable environment for SA

adhesion and seeding through microbial recognition of host cell receptors and bone extracellular matrix (ECM) proteins. Activation of the immune system and SA survival strategies coordinately affect the bone microenvironment (BME). This undergoes pathological alterations with formation of elusive niches (that favor chronic infection and antibiotic resistance) whose eradication requires invasive surgical interventions (bone debridement). A general consensus on OM pathogenesis, with major regard to the SA-bone cells crosstalk, is lacking, which poses severe limitations on diagnosis and therapy of this highly debilitating disease.

We aim to fill this gap by investigating the mechanisms underlying the interaction of SA with the bone microenvironment. In particular, we will focus on the soluble pattern recognition receptor pentraxin 3 (PTX3), well-known for a wide range of functions in innate resistance to opportunistic pathogens, regulation of inflammation, wound healing, and recently emerging as a new player in bone homeostasis and pathology.

Rational

Strong evidence has been generated in our past investigations to support a role of PTX3 in the pathogenesis of OM. In particular:

1) we have established an animal model of OM based on injection of SA into the femur of mice. In particular, >95% of SA-treated mice (hereafter, WT SA and PTX3 KO SA) developed bone infection in the injected limb only (no bacteria were found in the contralateral limb), demonstrating that the infection was local (as is in the human pathology). Of note, WT SA mice had higher bacterial loads than PTX3 KO SA in the bone, suggesting that in this model the absence of PTX3 protected the experimental animals from SA infection. Accordingly, inflammation was more prominent in WT SA as compared to PTX3 KO SA. Also, PTX3 levels were higher in WT SA as compared to WT PBS both in the serum and bone, and most of the newly synthesized protein (during infection) localized in the infected bone (consistent with our clinical observations, see below). Finally, microcomputed tomography (microCT) analyses showed marked disruption of the bone matrix in the infected limbs; in this case too, structural alterations were more prominent in WT SA than in PTX3 KO SA;

2) we have developed a new 3D model of OM based on cocultures of SA and murine osteoblastic MC3T3-E1 cells on magnesium-doped hydroxyapatite/collagen I (MgHA/Col) scaffolds that closely recapitulate the bone extracellular matrix, and provide a novel and close-to-physiology tool to address the pathogenetic mechanisms of OM at the host–pathogen interface; 3) an observational study has been accomplished at the Ortho Center of HRH that aimed at assessing the accuracy of serum and synovial fluid (SF) PTX3 levels in the diagnosis of hip and knee periprosthetic joint infections (PJIs, a leading form of OM), in a cohort of patients undergoing prosthesis revision. Plasma levels of the protein were not affected by the infection, however SF levels were significantly increased in infected patients. In particular, SF PTX3 had an elevated diagnostic accuracy for hip and knee PJIs regardless of the infection’s grade, whereas that of serum PTX3 was poor. In high grade PJIs, the diagnostic accuracy of synovial PTX3 was extremely elevated. Also, SF PTX3 had very high specificity both in high and low grade PJIs, indicating that this long pentraxin has a strong potential as a diagnostic biomarker in OM.

Hypothesis

Based on this rationale and our past experience with PTX3, we envisage that this long pentraxin is strategically placed at the interface between infection immunity and bone biology, and holds promise as a target for innovative and original research into OM pathogenesis. Therefore, a funding hypothesis of this proposal is that PTX3 is involved in the molecular mechanisms underlying bone infection and colonization by SA, and OM development. More precisely, we hypothesize that this long pentraxin exerts multiple roles in OM as prototypical soluble molecule of the innate immune system (pattern recognition molecule, PRM) and component of the bone microenvironment (BME).

General Objectives and specific aims

To challenge this hypothesis, we propose an integrated research strategy that combines three levels of investigation: (i) animal experimentation (based on OM modelling in gene-modified mice), (ii) “disease-in-a-dish” approaches (using state-of-the-art 3D models), and (iii) clinical studies (to

assess genetic and biochemical associations in patients with PJI). The general objective of the proposed investigations is to unravel molecular and cellular mechanisms of the OM pathogenesis, with a specific focus on the role of PTX3, as a prototypic soluble PRM and recently recognized player in bone pathophysiology.

To this ends, the following specific aims will be pursued:

- 1) to investigate the role of PTX3 in the etiopathogenesis of SA-dependent OM (SA-OM);
- 2) to identify cellular and molecular processes of the bone microenvironment that take place during SA infection and are possibly regulated by PTX3;
- 3) to define novel genetic profiles with diagnostic and prognostic potential in the clinical management of OM.

Experimental Design

A translational experimental strategy will be exploited that integrates in vivo modelling (in a murine model of SA-OM), in vitro experimentation (on bone biomimetic 3D scaffolds), and clinical studies (in a cohort of PJI patients). Major tasks of the project proposal are outlined as follows:

- 1) Characterization of the molecular mechanism(s) of PTX3 in the pathogenesis of OM. Our previous investigations indicate that the absence of PTX3 is associated with reduced infection (and inflammation) in a murine model of OM. Following upon this evidence, we will extend the current protocol of animal experimentation to mice that are genetically or pharmacologically modified in other molecules (in addition to PTX3), including components of the complement system and/or of the extracellular matrix that are known to be recognized by PTX3 and are involved in bone physio-pathology. In this way, we expect to gather information on how PTX3 participates in the pathogenesis of OM, and, in general, on the molecular mechanisms of this disease. Parallel experiments will be performed in vitro using 3D bone scaffolds, which provide an easily controlled and tunable yet simplified model of the BME;
- 2) Evaluation of the pharmacological blockade of PTX3 and its combination with nano-delivered antibiotics in the prophylaxis/therapy of OM. Our past animal experiments suggest that the pharmacological blockade (for example, by means of antibodies) of the PTX3 protein could be a novel

prophylactic/therapeutic strategy for treatment of OM. We will address this point, and assess efficacy and potency of PTX3 blocking antibodies (available in-house) in experimental murine models of SA-OM prophylaxis and therapy. Furthermore, we will develop new strategies for conjugation of SA-active antibiotics to nanoparticles and/or nanocarriers with the aim of facilitating their penetration into the bone matrix. We will, therefore, evaluate the combined effects of nano-delivered antibiotics and pharmacological blockade of PTX3 in the same murine models of OM. Similar experiments will be performed in vitro, whereby this setting is expected to support, guide and, possibly, extend the animal experimentation;

3) Assessing the diagnostic potential of PTX3 (and other selected genes) as a genetic biomarker in PJI. Our initial clinical observations strongly indicate that the levels of the PTX3 protein in the SF predict PJI in patients eligible for prosthesis revision with high specificity, thus pointing to this long pentraxin as a potential diagnostic biomarker in OM. To strengthen and extend this evidence, we have designed a retrospective genetic association study that has been recently approved by the Internal Review Board of HRH. In this study (which is expected to be completed in 2 years), patients are enrolled that took part in the previous protocol, genomic DNA is extracted from saliva specimens, and polymorphisms in the PTX3 gene (and other genes known to be involved in OM pathogenesis) are characterized. Along with available biochemical and clinical information (from the HRH's records), these (newly generated) genetic data will be integrated into prediction models to assess the diagnostic potential of PTX3 (and other genes) as a genetic biomarker of PJI, and, in general, identify a "genetic signature" that is associated with the risk of OM;

4) Validating the diagnostic potential of PTX3 (and other selected genes) as a genetic biomarker in PJI. We will perform a prospective multi-center genetic association study in an independent validation cohort of hip and knee prosthesis patients with a suspicion of PJI. Eligible patients (based on the criteria applied in the former study) will be enrolled over 4 years and donate blood and SF specimens (for DNA extraction, and dosing of the PTX3 protein). The genetic, biochemical and clinical information generated in the study will be

processed and elaborated as described above to validate: i) the association between genetic variability in PTX3 (and other genes involved in the pathogenesis of PJIs) and susceptibility to the infection, and ii) the association between PTX3 protein levels in the SF and presence/absence of the infection and its severity.

Expected Results

Our study is expected to generate novel paradigms in the field of osteoimmunology, with major regard to the role of the interface between pathogen biology, innate immunity and bone microenvironment in the pathogenesis of bacterial bone infections. In particular, we propose the immune system and bone component PTX3 as a novel diagnostic and therapeutic target in SA-OM: to address this point, proof-of-concept experimental evidence will be provided both at preclinical and clinical level. Overall, we expect to: i) unravel the role(s) of PTX3 in SA-induced OM disease mechanisms, ii) identify characteristics of the bone microenvironment that are associated with susceptibility to OM, iii) provide proof-of-concept of possible therapeutic/preventive strategies, and iv) identify new genetic markers with diagnostic and prognostic value in the clinical handling of bone infections. Novel and original information will be delivered with valuable impact on health care systems, and benefit to the patients.

Significance

Our proposal is an interdisciplinary research program designed to create multi-faceted, cutting-edge new knowledge in the field of bone biology. To this end, it integrates technologies and methodologies of osteology, immunology, microbiology, protein biochemistry, and clinical diagnostics. In fact, our project will be implemented at 3 parallel yet integrated levels: (1) in vivo [tasks 1 and 2], in a mouse model of intrabone infection, whose use is justified by the mechanistic complexity of OM pathogenesis, (2) in vitro [tasks 1 and 2], by means of 3D cocultures of osteogenic cell lines and bacteria, and (3) per infirmos [tasks 3 and 4], through genotype-phenotype association studies in selected cohorts of PJI patients.

SA-OM is a hardly manageable bone infection, which easily becomes chronic, very painful and debilitating, often resulting into repeated surgeries

or even amputation after failure of prolonged antibiotic therapies. Hence, the social and economic relevance of this pathology. In this regard, according to the 2019 annual report of the Italian Arthroplasty Registry, promoted by Istituto Superiore di Sanità (<https://riap.iss.it/riap/it/>), more than 70,500 arthroplasty surgeries have been performed in Italy in 2018; 5.6% of the total were revision surgeries, and in the 8.8 % of cases revision was required because of infection. Therefore, it is timely to develop new drugs for these complications, also to cope with the increasingly serious problem of multidrug resistant microorganisms. The functional characterization of the role of PTX3 in the specific pathological context

of bone infections holds promise to have an important impact on public health and health expenditure, and lays the foundations for future development in the pharmaceutical setting.

Also, our study will broaden the knowledge on innate immunity in the framework of bacterial infections of the skeleton, and more in general on structural features of the bone tissue of relevance to this pathological context.

Finally, a junior PostDoc and a technician will be hired on the project, which will therefore provide a great formative opportunity for young researchers, and an added value for the development of their scientific and professional careers.

PROGETTO 4. Sviluppo di nuove terapie per il trattamento delle metastasi ossee, che sarà sviluppato nel periodo 2022-2024 presso l'Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri IRCCS nelle sedi di Milano e Bergamo.



Razionale e scopo dello studio

Le metastasi ossee rappresentano un importante problema clinico, per cui non esistono ancora terapie efficaci. La formazione di metastasi ossee, associata soprattutto a particolari tipi tumorali come il carcinoma della mammella e della prostata, porta a una ridotta sopravvivenza e una peggiore qualità della vita dei pazienti. Quindi è importante studiare lo sviluppo di nuove strategie terapeutiche specifiche per le metastasi ossee.

Il microambiente tumorale (TME), nelle sue componenti cellulari e molecolari, ha un ruolo

determinante nello sviluppo delle metastasi, soprattutto nella sede ossea. Nello specifico, l'interazione fra le cellule tumorali e le componenti, cellulari e non, dell'osso influenzano molte fasi del processo di formazione delle metastasi ossee: dalla regolazione della

migrazione delle cellule tumorali alla sede ossea e la sopravvivenza delle cellule tumorali stesse, alla proliferazione della nuova lesione, e infine all'attivazione di cellule deputate al rimodellamento osseo per formare lesioni osteolitiche o osteoblastiche. Sulla base di queste considerazioni, il nostro progetto si propone di sviluppare strumenti terapeutici che agiscano sul microambiente tumorale, con il fine ultimo di ostacolare la crescita dei tumori e delle metastasi. In questo progetto ci occupiamo di due protagonisti del microambiente tumorale: i macrofagi, cellule dell'immunità innata che possono influenzare la progressione tumorale con esiti opposti a seconda del grado di polarizzazione, e la trombospodina-1 (TSP-1), una molecola extracellulare che regola l'interazione delle cellule con ambiente, soprattutto in situazioni patologiche, compresi i tumori e le metastasi.

Studi recenti del nostro gruppo, sostenuti dalla Fondazione hanno portato a progressi nella identificazione di molecole attive su cellule immunitarie e cellule deputate al rimodellamento della matrice ossea e nello sviluppo di nuove

strategie per indirizzare queste terapie in modo selettivo all'osso.

Obiettivi del progetto

Lo scopo del progetto è proseguire nello sviluppo di questi composti terapeutici che "riprogrammino" il microambiente dell'osso, per contrastare la crescita delle metastasi e proteggere l'osso dalla degradazione patologica. Specificamente, vogliamo sviluppare composti che i) attivino la risposta immunitaria (agendo in particolare sui macrofagi, cellule specializzate che a seconda del segnale di polarizzazione possono influenzare diversamente le metastasi), ii) prevenano la degradazione della matrice ossea associata alle metastasi, iii) siano indirizzati in modo specifico all'osso, in modo da limitare gli effetti tossici su altri organi.

Lo studio è stato suddiviso in due sottoprogetti:

1. modulazione farmacologica dei macrofagi del microambiente metastatico, utilizzando agonisti dei recettori toll-like (TLRs) per l'acquisizione di un fenotipo antitumorale che inibisca l'attecchimento e la progressione tumorale metastatica.
2. analisi del ruolo della TSP-1 nello sviluppo di metastasi ossee osteolitiche e identificazione di specifici domini con potenziale attività antimetastatica e osteoprotettiva come base per nuovi approcci terapeutici.

Per lo svolgimento del progetto utilizzeremo un approccio multidisciplinare che integra la farmacologia, la bioinformatica, la biochimica, le nanotecnologie, la biologia cellulare, l'uso di modelli 3D che ricapitolano la nicchia metastatica ossea, e la sperimentazione in vivo per testare l'efficacia dei trattamenti.

Questi progetti saranno affrontati con un duplice approccio, preventivo e terapeutico. Quello preventivo per chiarire se mediante la modulazione del fenotipo di macrofagi (progetto 1) e dell'attività delle cellule depitate al rimodellamento osseo (progetto 2), sia possibile inibire l'attecchimento delle cellule tumorali circolanti e la formazione di metastasi ossee, nonché di bloccare la degradazione ossea.

L'approccio terapeutico, invece, mira a valutare se la stimolazione dei macrofagi presenti nel microambiente possa indurre l'immunità adattativa a colpire le cellule maligne (progetto 1) e se si possa bloccare il vizioso cross-talk tra cellule tumorali e osteoclasti (progetto 2).

Nel corso dei prossimi tre anni indagheremo l'effetto dei composti in esame sull'interazione delle cellule tumorali con i componenti cellulari e molecolari dell'ambiente osseo e valuteremo nuove nanotecnologie per aumentare la selettività del trattamento.

Contributi del 5 per mille

In ottemperanza all'art.16 comma 5 del DPCM 23/07/2020, all'art. 1 comma 125 della Legge 4/8/2017 n°124 e all'art. 8 del D. Lgs. 3/7/2017 n°111, la Fondazione Beppe e Nuccy Angiolini ONLUS comunica che ha incassato il giorno 29/10/2021 contributi del 5 per mille relativi agli anni 2019 e 2020 per € 742,07 dal Ministero del Lavoro e delle Politiche Sociali.

Approvazione, deposito e pubblicazione del bilancio sociale

Il Bilancio Sociale 2021 della Fondazione Beppe e Nuccy Angiolini ONLUS è stato redatto in conformità ai alle "Linee guida per la redazione del bilancio sociale degli enti del Terzo settore", adottate con il Decreto 4 luglio 2019 dal Ministero del Lavoro e delle Politiche Sociali. Esso è pubblicato anche sul sito

www.fondazionebeppeenuccyangiolini.it

Attestazione del Revisore Unico, Dott. Paolo Gullotta di conformità del Bilancio Sociale alle linee guida di cui al decreto 4 luglio 2019 del Ministero del Lavoro e delle Politiche Sociali

Nell'esercizio chiuso al 31 dicembre 2021, ho svolto le funzioni previste dall'art. 30 comma 7 del D.Lgs. n. 117/2017.

Il Consiglio di Amministrazione è responsabile per la redazione del Bilancio Sociale. L'organo di controllo è responsabile di monitorare l'osservanza delle finalità civiche, solidaristiche e di utilità Sociale, avuto particolare riguardo alle disposizioni di cui agli articoli 5,6,7 e 8 del D.Lgs. n. 117/2017 e di attestare che il Bilancio Sociale sia stato redatto in conformità alle linee guida di cui all'articolo 14 del D.Lgs. n. 117/2017 (le "linee guida").

Nel corso dell'esercizio chiuso al 31 dicembre 2021 l'attività è stata ispirata alle disposizioni di legge e alle Norme di comportamento dell'organo di controllo degli enti del Terzo settore emanate dal Consiglio Nazionale dei Dottori Commercialisti e degli Esperti Contabili. Allo scopo di accertare la conformità del Bilancio Sociale rispetto alle linee guida di cui all'articolo 14 del D.Lgs. n. 117/2017, l'organo di controllo ha anzitutto attivato meccanismi per la raccolta di informazioni sulle attività svolte relative ai progetti finanziati dalla Fondazione.

Gli accertamenti svolti dall'organo di controllo ai fini del riscontro della conformità alle previsioni inderogabili delle linee guida per la redazione del Bilancio Sociale hanno riguardato in particolare:

- la rispondenza della struttura del Bilancio Sociale rispetto all'articolazione delle linee guida;
- la presenza nel Bilancio Sociale delle informazioni di cui alle specifiche sotto-sezioni delle linee guida;
- l'indicazione dei motivi per i quali specifiche sezioni o sotto-sezioni delle linee guida siano state eventualmente omesse;
- il rispetto dei principi di redazione indicate nelle linee guida.

Ad esito delle verifiche condotte secondo le modalità sopra illustrate, considerate le evidenze acquisite, nessun elemento pervenuto alla mia attenzione è tale da indurre a ritenere che il Bilancio Sociale della Fondazione Beppe e Nuccy Angiolini ONLUS non sia stato redatto, in tutti gli aspetti significativi, in conformità con le linee guida che ne stabiliscono le modalità di predisposizione.

Milano, 15 Marzo 2022

Il Revisore Unico della
Fondazione Beppe e Nuccy Angiolini ONLUS

Dott. Paolo Gullotta

ALLEGATO

- 1. Bilancio di esercizio al 31 Dicembre 2021**
 - a. Stato Patrimoniale**
 - b. Rendiconto Gestionale**
 - c. Rendiconto per Cassa**
 - d. Relazione di Missione**

- 2. Relazione del Revisore Unico al Bilancio di Esercizio al 31 Dicembre 2021**

BILANCIO DI ESERCIZIO AL 31 DICEMBRE 2021

(Schema decreto ministeriale n. 39 del 5 marzo 2020)

STATO PATRIMONIALE

STATO PATRIMONIALE ATTIVO		31/12/2021	31/12/2020
B) Immobilizzazioni		3.311,70	4.787,05
I. Immobilizzazioni immateriali			
7. Spese di costituzione		3.311,70	4.787,05
C) Attivo circolante		113.406,36	110.752,17
IV. Disponibilità liquide			
1. Depositi bancari		113.406,36	110.752,17
D) Risconti attivi		173,17	0,00
TOTALE ATTIVO		116.891,23	115.539,22
STATO PATRIMONIALE PASSIVO		31/12/2021	31/12/2020
A) Patrimonio Netto		116.890,23	115.539,22
I. Patrimonio vincolato:			
1. Fondo di dotazione		70.000,00	70.000,00
2. Fondo di garanzia		30.000,00	30.000,00
II. Patrimonio libero:			
1. Risultato gestionale esercizio in corso		1.351,01	39,13
3. Risultato gestionale esercizi precedenti		15.539,22	15.500,09
D) Debiti		1,00	0,00
12. Altri debiti		1,00	0,00
TOTALE PASSIVO		116.891,23	115.539,22

RENDICONTO GESTIONALE

PROVENTI E RICAVI		31/12/2021	31/12/2020
A) Proventi da attività di interesse generale		242.942,07	250.150,00
1. Apporti dei Fondatori		240.000,00	250.000,00
4. Erogazioni liberali		2.200,00	150,00
5. Proventi del 5 per mille		742,07	0,00
D) Proventi da attività finanziarie e patrimoniali		0,00	7.506,00
1) Da rapporti bancari, interessi		0,00	583,60
2) Da altri investimenti finanziari, plusvalenze titoli		0,00	6.922,40
E) Proventi di supporto generale		0,62	2,97
2) Altri proventi, sopravvenienze attive		0,62	2,97
Totale proventi e ricavi		242.942,69	257.658,97
ONERI E COSTI		31/12/2020	31/12/2020
A) Costi e Oneri da attività di interesse generale		240.000,00	240.000,00
1a. Donazione a Humanitas per la Ricerca		120.000,00	120.000,00
1b. Donazione a Istituto Farmacologico Mario Negri		120.000,00	120.000,00
B) Costi e Oneri da attività diverse		0,00	13.553,58
1. Pubblicazioni		0,00	13.553,58
D) Costi e Oneri da attività finanziarie e patrimoniali		15,00	1.698,01
1. Su rapporti bancari e finanziari		15,00	1.698,01
E) Costi e Oneri di supporto generale		1.576,68	2.368,25
2. Servizi		101,33	71,98
5. Ammortamenti immobilizzazioni immateriali		1.475,35	2.175,28
7. Altri oneri, sopravvenienze passive		-	120,99
Totale costi e oneri		241.591,68	257.619,84
Avanzo d'esercizio		1.351,01	39,13

RENDICONTO PER CASSA

ENTRATE	31/12/2021	31/12/2020
A) Entrate da attività di interesse generale	242.942,07	250.150,00
1) Apporti dei Fondatori	240.000,00	250.000,00
2) Erogazioni liberali	2.200,00	150,00
5) Entrate del 5 per mille	742,07	0,00
D) Entrate da attività finanziarie e patrimoniali	0,62	6.144,41
1) Da rapporti bancari	0,62	7,21
Da altri investimenti finanziari (netto)	-	6.137,20
TOTALE ENTRATE	242.942,69	256.294,41
USCITE	31/12/2021	31/12/2020
A) Uscite da attività di interesse generale	240.000,00	240.000,00
1) Erogazioni:		
a. a Humanitas per la Ricerca	120.000,00	120.000,00
b. a Istituto Farmacologico Mario Negri	120.000,00	120.000,00
B) Uscite da attività diverse	-	13.553,58
1) Pubblicazioni	-	13.553,58
D) Uscite da attività finanziarie	14,00	406,50
1) Su rapporti bancari	14,00	23,25
2) Su investimenti finanziari	-	383,25
E) Uscite di supporto generale	274,50	71,98
5) Altre uscite	274,50	71,98
TOTALE USCITE	240.288,50	254.032,06
AVANZO DI ESERCIZIO	2.654,19	2.262,35
AVANZO ALL'INIZIO DEL PERIODO	110.752,17	108.489,82
DISPONIBILITA' LIQUIDE FINALI	113.406,36	110.752,17

RELAZIONE DI MISSIONE

La presente Relazione di Missione ha lo scopo di garantire una adeguata rendicontazione sull'operato della Fondazione e dei risultati ottenuti, con una prospettiva centrata sul perseguimento della missione istituzionale della Fondazione.

Essa è stata redatta secondo le linee guida riportate nel Mod. C, Relazione di Missione, del Decreto Ministeriale 5 marzo 2020 emanato dal Ministero del Lavoro e delle Politiche Sociali.

Nell'esercizio trascorso l'attività della Fondazione si è incentrata nel perseguire gli scopi sociali per i quali è stata istituita.

Il presente Bilancio dell'esercizio chiuso al 31 dicembre 2021, di cui la presente relazione costituisce parte integrante corrisponde alle risultanze delle scritture contabili regolarmente tenute ed è redatto conformemente al dettato degli articoli 2423 e seguenti del Codice Civile con gli opportuni adattamenti necessari alla natura non profit della Fondazione. Il Bilancio di esercizio relativo al quarto anno di vita della Fondazione, presenta proventi e ricavi per Euro 242.942,69 e costi e oneri per Euro 241.591,68 con un avanzo di esercizio pari a Euro 1.351,01.

La continuità di applicazione dei criteri di valutazione nel tempo rappresenta elemento necessario ai fini della comparabilità dei bilanci nei vari esercizi. In particolare i criteri utilizzati non si discostano da quelli adottati per la predisposizione del bilancio dell'esercizio precedente, che avevano già tenuto conto delle novità introdotte nell'ordinamento nazionale dal D.Lgs. 139/2015 in data 22 dicembre 2016 ed ulteriormente integrati con le modifiche del 29 dicembre 2017, del 28 gennaio 2019 e del DM. 5 marzo 2020.

Sulla base delle Linee Guida sopra richiamate, si ritiene opportuno precisare quanto segue:

La Fondazione Beppe e Nuccy Angiolini si è costituita in data 19 Ottobre 2017, con Atto Notaio Gianfranco Benetti, Notaio in Rozzano

dai Signori Giuseppe Angiolini e Giuseppina Sala, avente natura non lucrativa di utilità sociale, con sede in Milano, Via Agnello 19.

Riconoscimenti giuridici

In data 7 novembre 2017 è stata registrata nell'Anagrafe Unica Onlus, art. 10, C1, lettera A, D.Lgs. 460/1997.

In data 22 dicembre 2017 è stata iscritta nel Registro delle persone Giuridiche della Prefettura di Milano al numero d'ordine 1594 della pagina 6136 del volume 7°.

In data 15 ottobre 2020 con Atto Notaio Roberto Bossi, Notaio in Milano sono state apportate alcune modifiche allo Statuto al fine di renderlo rispondente ai requisiti richiesti dalla nuova normativa in tema di Enti del Terzo Settore (ETS). Il nuovo Statuto sarà operativo dopo la creazione del Registro Unico Nazionale del terzo Settore (RUNTS) e la successiva iscrizione della Fondazione.

Riferimenti civilistici e fiscali

Codice fiscale 97795610159.

Sito web: www.fondazionebeppeenuccyangiolini.it

PEC: fondazionebeppeenuccyangiolini@pec.it

Consiglio di Amministrazione

Il Consiglio di Amministrazione, nominato con atto costitutivo, resta in carica a tempo indeterminato, ed è composto da Giuseppe Angiolini, Presidente, Alessandra Faraone, Vice Presidente e Giuseppina (Nuccy) Sala, Amministratore.

Revisore legale

Il revisore legale, Dott. Paolo Gullotta, resta in carica fino alla approvazione del Bilancio al 31 Dicembre 2023.

Numero dei dipendenti

Al 31 dicembre 2021 la Fondazione non aveva dipendenti.

Requisiti per deducibilità fiscale delle erogazioni liberali

La Fondazione possiede i requisiti di legge

per consentire la deducibilità delle erogazioni liberali ricevute dalle persone fisiche e dagli enti soggetti all'imposta sui redditi (IRES) per

un ammontare secondo le disposizioni di legge.

Criteri di valutazione applicati nella redazione del Bilancio

La valutazione delle voci è stata fatta ispirandosi a criteri generali di prudenza e competenza, nella prospettiva della continuazione della attività. I criteri utilizzati non si discostano dai medesimi utilizzati nella formazione del bilancio del precedente esercizio ed è basata sulla prospettiva della continuità delle attività della Fondazione negli anni futuri.

L'applicazione del principio di prudenza ha comportato la valutazione individuale degli elementi componenti le singole poste o voci delle attività o passività, per evitare compensazioni tra perdite che dovevano essere riconosciute e profitti da non riconoscere in quanto non realizzati.

In ottemperanza al principio di competenza, l'effetto delle operazioni e degli altri eventi è stato rilevato contabilmente ed attribuito all'esercizio al quale tali operazioni ed eventi si riferiscono (proventi e ricavi; costi e oneri), e non a quello in cui si concretizzano i relativi movimenti di numerario (incassi e pagamenti).

I criteri di valutazione adottati nel bilancio di esercizio fanno riferimento a quanto previsto dalle norme del codice civile e dalla raccomandazione N. 3 "La nota integrativa e la redazione di missione" predisposta dal Consiglio Nazionale dei Dottori Commercialisti, Commissione Aziende non-profit.

Si precisa che lo schema di Rendiconto Gestionale, pur rispettando il principio della correlazione tra costi e ricavi, riclassifica le voci per destinazione e non per natura.

Le aree gestionali, individuate dall'Agenzia per il Terzo Settore, nelle quali si concretizza l'attività della Fondazione sono:

- **Proventi e costi da attività di interesse generale:** comprende le attività tipiche della Fondazione, volte al perseguimento degli scopi statutari. Questa area rileva i proventi ricevuti e i costi sostenuti per la

gestione dei progetti approvati.

- **Gestione accessoria:** comprende costi e ricavi da attività diverse della gestione tipica.
 - **Gestione finanziaria:** Comprende i proventi e gli oneri derivanti dall'impiego e dalla gestione delle risorse finanziarie e patrimoniali della Fondazione.
 - **Gestione di supporto generale:** comprende le attività comuni e di supporto generale.

I più significativi criteri di valutazione adottati per la redazione del bilancio in osservanza dell'art. 2426 del Codice civile sono i seguenti:

Immobilizzazioni Immateriali

Sono iscritte al costo storico di acquisizione ed esposte al netto degli ammortamenti effettuati nel corso dell'esercizio ed imputati direttamente alle singole voci. L'aliquota utilizzata è del 25%.

Crediti

La rilevazione iniziale del credito è effettuata al valore di presumibile realizzo, pari al valore nominale in quanto è certa la loro esigibilità.

Disponibilità liquide

Le disponibilità liquide di banca sono iscritte al loro valore nominale.

Patrimonio netto

E' formato dal patrimonio libero, che è costituito dal risultato gestionale dell'esercizio in corso e dal risultato gestionale degli esercizi precedenti, nonché dalle riserve statutarie libere e dal patrimonio vincolato che è composto dal fondo

di dotazione, dalle riserve statutarie vincolate e da eventuali fondi vincolati per scelte operate dagli Organi Istituzionali.

Debiti

Irrilevanti per debiti a breve termine, ossia con scadenza inferiore ai 12 mesi.

Ratei e risconti

Nella voce ratei e risconti attivi e passivi vengono esclusivamente iscritti proventi e oneri dell'esercizio che avranno manifestazione numeraria in esercizi successivi, e i ricavi e i costi conseguiti o sostenuti entro la chiusura dell'esercizio ma di competenza di esercizi successivi.

Rendiconto gestionale

I proventi sono contabilizzati secondo il principio della prudenza e della competenza che normalmente coincide con il momento in cui si

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 concretizzano.

I proventi derivanti dal 5x1000 sono contabilizzati tra i proventi dell'esercizio in cui si sono incassati.

Gli oneri vengono contabilizzati secondo il criterio della competenza. Gli oneri di natura finanziaria e quelli derivanti da prestazione di servizi ricevuti sono riconosciuti in base alla competenza temporale.

Deroghe ai sensi del quarto comma articolo 2423 del Codice Civile

Si precisa che nell'allegato bilancio non si è proceduto a deroghe ai sensi del quarto comma dell'articolo 2423 del Codice Civile.

STATO PATRIMONIALE ATTIVO

Di seguito sono riportati, maggiori dettagli relativi alle immobilizzazioni; attivo circolante; disponibilità liquide; patrimonio netto e variazioni.

B) Immobilizzazioni

I. Immobilizzazioni immateriali

	Valore contabile al 31/12/ 2020	Incrementi/ decrementi	Ammortamento esercizio	Valore contabile al 31/12/2021
Costi di costituzione	4.787	0	1.475	3.312

Le immobilizzazioni immateriali si riferiscono ai costi sostenuti nel 2017 e 2018 per la costituzione della Fondazione e vengono ammortizzati in un periodo di 5 anni.

C) Attivo circolante

IV. Disponibilità liquide

	Valore al 31-12-2020	Variazione nell'esercizio	Valore al 31-12-2021
1. Depositi bancari	110.752	2.654	113.406

Il saldo rappresenta le disponibilità liquide e l'esistenza di numerario e di valori alla data di chiusura dell'esercizio. Esso contiene anche l'ammontare del fondo di dotazione e di garanzia conferito dai Fondatori in base a quanto stabilito in sede di costituzione.

La variazione delle disponibilità liquide verificatesi nel corso dell'esercizio è dettagliatamente illustrata nel Rendiconto per Cassa.

D) *Risconti attivi*

Il saldo è unicamente dovuto a due risconti attivi per fatture pluriennali.

STATO PATRIMONIALE PASSIVO

A) *Patrimonio netto*

<i>Descrizione</i>	<i>31 dicembre 2020</i>	<i>31 dicembre 2021</i>
<i>Patrimonio vincolato</i>		
Fondo di dotazione	70.000	70.000
Fondo di garanzia	30.000	30.000
Totale patrimonio vincolato	100.000	100.000
<i>Patrimonio libero</i>		
Avanzo di gestione precedente	15.500	15.539
Avanzo di gestione in corso	39	1.351
Totale patrimonio libero	15.539	16.890
TOTALE	115.539	116.890

RENDICONTO GESTIONALE

A) *Proventi da attività di interesse generale*

<i>Descrizione</i>	<i>31/12/2021</i>	<i>31/12/2020</i>	<i>Variazioni</i>
Apporto dei Fondatori	240.000	250.000	-10.000
Altre erogazioni liberali	2.200	150	2.050
Proventi del 5 per mille	742	0	742
TOTALE	242.942	250.150	7.208

Riguardano le donazioni effettuate dai Fondatori nel periodo al fine di avere i mezzi necessari per il finanziamento dei progetti di ricerca e donazioni ricevute nel periodo, oltre ad altre erogazioni ricevute e i proventi derivanti dal 5 per mille.

D) Proventi e Ricavi: Proventi da attività finanziarie e patrimoniali

Descrizione	31/12/2021	31/12/2020	Variazioni
Da rapporti bancari	0	583	-583
Da altri investimenti finanziari	0	6.922	-6.922
TOTALE	0	7.506	-7.506

Nel 2021 non si sono realizzati proventi derivano da interessi o proventi da rapporti bancari o finanziari.

A) Costi e oneri per attività di interesse generale

Descrizione	31/12/2020	31/12/2019	Variazioni
Donazione a Humanitas per la Ricerca	120.000	120.000	0
Donazione a Istituto Farmacologico Mario Negri	120.000	120.000	0
Pubblicazione	0	13.554	-13.554
Totale	253.554	240.000	-13.554

Le Donazioni riguardano il finanziamento per il primo anno del secondo triennio di due ulteriori ricerche così come approvate dal Consiglio di Amministrazione della Fondazione in data 14 Dicembre 2021 presso:

- 1- l'Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri con il progetto "Novel therapeutic strategies targeting the tumor microenvironment of bone metastases".
- 2- la Fondazione Humanitas per la Ricerca "Diagnostic and therapeutic potential of the long pentraxin PTX3 in bacterial infections of the bone".

D) Costi e Oneri da Attività Finanziarie e Patrimoniali

Descrizione	31/12/2020	31/12/2020	Variazioni
Su rapporti bancari e finanziari	15	1.698	-1.683

L'importo riguarda commissioni e altri costi bancari.

INDICATORI DI BILANCIO

Di seguito sono riportati alcuni indicatori di efficacia e efficienza dell'attività della Fondazione:

Indicatore relativo alla attività di interesse generale

Descrizione	31 dicembre 2021	31 dicembre 2020
Incidenza oneri da attività istituzionali	99,3%	93,1%

La percentuale evidenzia il rapporto degli oneri della attività istituzionale sul volume complessivo degli oneri. L'indicatore mostra una ottima incidenza di tali oneri.

Numero di progetti sostenuti ad oggi

Descrizione	31 dicembre 2021	31 dicembre 2020
Progetti totali sostenuti o programmati	4	2

Importo donazioni ricevute

Descrizione	31 dicembre 2021	31 dicembre 2020
Totale liberalità ricevute dai Fondatori	240.000	250.000
Altre liberalità ricevute	2.200	150
Totale liberalità ricevute	242.200	250.150

Evidenzia l'importo totale delle liberalità ricevute dalla Fondazione a titolo di copertura dei progetti promossi e di copertura degli oneri di supporto generale della attività.

Indicatori oneri di attività di supporto

Descrizione	31 dicembre 2021	31 dicembre 2020
Incidenza oneri di supporto	0,6%	0,9%

La percentuale evidenzia il rapporto complessivo degli oneri di attività di supporto sul volume complessivo dei costi e oneri.

ALTRE INFORMAZIONI
Situazione fiscale

La Fondazione, essendo un Ente senza fine di lucro e non esercitando attività commerciale, non è

soggetto passivo d'imposta.

Compensi ad Amministratori e al Revisore Unico

La Fondazione non ha corrisposto compensi o rimborso spese agli Organi Sociali.

Fatti di rilievo avvenuti dopo la chiusura dell'esercizio

Non esistono fatti di rilievo tali da modificare il presente bilancio avvenuti dopo la chiusura dell'esercizio e ad oggi a conoscenza degli Amministratori.

Destinazione dell'avanzo di gestione

L'avanzo di gestione pari a Euro 1.351,01 viene destinato al Patrimonio libero.

Milano, 31 Marzo 2022



Il Presidente della
Fondazione Beppe e Nuccy Angiolini Onlus
Giuseppe Angiolini

RELAZIONE DEL REVISORE UNICO AL BILANCIO DI ESERCIZIO AL 31 DICEMBRE 2021

Ho svolto la revisione legale dei conti del Bilancio d'esercizio della Fondazione Beppe e Nuccy Angiolini ONLUS, chiuso al 31/12/2021. Tale Bilancio è stato redatto facendo riferimento alle norme di legge che disciplinano il bilancio d'esercizio, interpretate ed integrate dai principi contabili enunciati dall'Organismo Italiano di Contabilità, dalle Raccomandazioni emanate dalla Commissione Aziende Non profit del CNDCEC e dalle Linee Guida e schemi indicati nel Decreto Ministeriale n. 39 del 5 marzo 2020. La responsabilità della redazione del bilancio d'esercizio in conformità alle norme che ne disciplinano i criteri di redazione compete ai Consiglieri della Fondazione Beppe e Nuccy Angiolini Onlus. E' mia la responsabilità del giudizio professionale espresso sul bilancio d'esercizio e basato sulla revisione contabile.

1. Il mio esame è stato condotto secondo i principi di revisione emanati dal Consiglio Nazionale dei Dottori Commercialisti e degli esperti contabili e raccomandati dalla Consob. In conformità ai predetti principi, la revisione è stata svolta al fine di acquisire ogni elemento necessario per accertare se il bilancio d'esercizio sia viziato da errori significativi e se risulti, nel suo complesso, attendibile. Il procedimento di revisione comprende l'esame, sulla base di verifiche a campione, degli elementi probativi a supporto dei saldi e delle informazioni contenuti nel bilancio, nonché la valutazione dell'adeguatezza e della correttezza dei criteri contabili utilizzati e della ragionevolezza delle stime effettuate dai Consiglieri. Ritengo che il lavoro svolto fornisca una ragionevole base per l'espressione del mio giudizio professionale.
2. A mio giudizio, il soprammenzionato Bilancio d'esercizio è conforme alle norme che ne disciplinano i criteri di redazione, essa pertanto è stata redatta con chiarezza e rappresenta in modo veritiero e corretto la situazione patrimoniale e finanziaria ed il risultato di gestione della Fondazione Beppe e Nuccy Angiolini Onlus per l'esercizio chiuso al 31 dicembre 2021.

Il Bilancio consuntivo chiuso al 31 Dicembre 2021 presenta Proventi e Ricavi per € 242.942,69, Oneri e Costi per € 241.591,68 ed un avanzo d'esercizio di € 1.351,01.

Milano, 15 Marzo 2022

Il Revisore Unico della
Fondazione Beppe e Nuccy Angiolini ONLUS

Dott. Paolo Gullotta



FONDAZIONE BEPPE E NUCCY ANGIOLINI ONLUS
Sede legale: 20121 Milano - Via Agnello19
Codice Fiscale: 97795610159 - Codice Destinatario: SUBM70N
Registrato Prefettura di Milano N. 1594, pagina 6136, volume 7°
Registrata Anagrafe Unica Onlus art. 10, C1, lett A, D.Lgs 460/1997, in data
7/11/2017 IBAN IntesaSanPaolo: IT98K 03069 096061 00000 154885
Patrimonio netto Euro 100.000,00 i.v.